

UNIVERSITÉ DE PARIS  
FACULTÉ DE PHARMACIE  
Année 1928-29 — N° 21

---

Contribution à l'Étude  
des  
Essais Pharmaceutiques de la Pepsine

---

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris  
(Pharmacie)

*présentée et soutenue le*      *Juillet 1929*

PAR

PIERRE LEGRAND

PHARMACIEN DE 1<sup>re</sup> CLASSE

---

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*  
          HÉRISSEY, *Professeur.*  
          FLEURY, *Agrégé.*

---

DIJON

IMPRIMERIE F. MASSEBEUF  
69, Rue Condorcet, 69

---

1929







Contribution à l'Étude  
des  
Essais Pharmaceutiques de la Pepsine

---

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris  
(Pharmacie)

*présentée et soutenue le*      *Juillet 192*

PAR

**PIERRE LEGRAND**

PHARMACIEN DE 1<sup>re</sup> CLASSE

---

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*  
HÉRISSEY, *Professeur.*  
FLEURY, *Agrégé.*

---

DIJON  
IMPRIMERIE F. MASSEBEUF  
69, Rue Condorcet, 69

1929

# PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

## ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. \*,  $\odot$  I.  
PERROT, *Assesseur*, O. \*,  $\odot$  I.  
G. DURSENT, *Secrétaire*, \*,  $\odot$  I.

## PROFESSEURS

|                                              |                                     |
|----------------------------------------------|-------------------------------------|
| MM. RADAIS, O. *, $\odot$ I.                 | Cryptogamie et Microbiologie.       |
| BÉHAL, Membre de l'Institut C. *, $\odot$ I. | Chimie organique.                   |
| PERROT, O. *, $\odot$ I.                     | Histoire naturelle des médicaments. |
| COUTIÈRE, O. *, $\odot$ I.                   | Zoologie.                           |
| GRIMBERT, *, $\odot$ I.                      | Chimie biologique.                  |
| LEBEAU, O. *, $\odot$ I.                     | Pharmacie chimique.                 |
| DELÉPINE, O. *, $\odot$ I.                   | Hydrologie et Hygiène.              |
| GUERBET, *, $\odot$ I.                       | Toxicologie.                        |
| BOUGAULT, *, $\odot$ I.                      | Chimie analytique.                  |
| GORIS, *, $\odot$ I.                         | Pharmacie galénique.                |
| GUÉRIN, *, $\odot$ I.                        | Botanique générale.                 |
| TASSILLY, *, $\odot$ I.                      | Physique.                           |
| DAMIENS, *, $\odot$ I.                       | Chimie minérale.                    |

*Professeur Honoraire* : M. A. VILLIERS, \*,  $\odot$  I.

## CHARGÉS DE COURS

|                              |                                            |
|------------------------------|--------------------------------------------|
| MM. N...                     | Minéralogie.                               |
| Marc HONNORAT, *, $\odot$ I. | Législation et Déontologie pharmaceutique. |
| LUTZ, *, $\odot$ A.          | Cryptogamie.                               |

## AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, \*,  $\odot$  I.  
LUTZ, \*,  $\odot$  I.  
LAUNOY, \*,  $\odot$  I.  
HÉRISSEY, \*,  $\odot$  I.  
DELABY, \*,  $\odot$  A.

MM. PICON,  $\odot$  I.  
FABRE,  $\odot$  A.  
MASCRÉ,  $\odot$  I.  
FLEURY,  $\odot$  I.  
BACH,  $\odot$  I.



## CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

|                                                                        |                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| MM. DEFACQZ, *, $\odot$ I.                                             | Chimie générale.                                                      |
| SOMMELET, *, $\odot$ I., FABRE, $\odot$ A. :                           | <i>agregés,</i>                                                       |
|                                                                        | chargés des travaux de Chimie analytique.                             |
| SOUÈGES, $\odot$ I.                                                    | Micrographie.                                                         |
| LEROUX, $\odot$ I.                                                     | Physique.                                                             |
| DEVAL, $\odot$ I.                                                      | Microbiologie.                                                        |
| HÉRISSEY, *, $\odot$ I., DELABY, *, $\odot$ A., et PICON, $\odot$ I. : |                                                                       |
|                                                                        | <i>agregés,</i> chargés des travaux généraux de 4 <sup>e</sup> année. |

*Bibliothécaire en Chef* : M. BEAULIEUX,  $\odot$  I.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE  
MONSIEUR LE PROFESSEUR GRIMBERT,  
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE,

*Respectueux Hommages.*

A MON MAÎTRE,  
MONSIEUR LE PROFESSEUR FLEURY,  
PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE PARIS,  
PHARMACIEN DES HOPITAUX,

*Qui n'a jamais cessé de nous prodiguer ses précieux  
et bienveillants conseils.*

A MON MAÎTRE ET AMI,  
MONSIEUR BRENANS,  
DOCTEUR ÈS-SCIENCES,  
ASSISTANT DE CHIMIE A LA FACULTÉ DE PHARMACIE,

*Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance,  
pour la sympathie constante qu'il n'a jamais  
cessé de nous témoigner,*

A MONSIEUR HUCHET,

PHARMACIEN DE 1<sup>re</sup> CLASSE,

INGÉNIEUR-CHIMISTE,

*En témoignage de reconnaissance.*

A MON PÈRE,

*Qui sut me faire aimer la profession de pharmacien  
et dont je m'attache à suivre l'exemple.*

*En témoignage de ma reconnaissance et de mon  
affection.*

A MA MÈRE,

A MA FEMME,

A MA FILLE,

*Faible témoignage de ma profonde affection.*

A TOUS MES PARENTS ET GRANDS-PARENTS

A TOUS MES AMIS,

DE LA FACULTÉ DE PARIS,

ET DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE DIJON



## INTRODUCTION

---

Depuis longtemps les diverses pharmacopées ont senti la nécessité d'avoir un mode d'essai de la pepsine; mais, si l'on considère les essais des pharmacopées françaises et étrangères, on constate des différences profondes dans les conditions où ils doivent être effectués et dans les titres officiels qu'ils déterminent.

La pharmacopée française actuelle exige que la pepsine ait un titre minimum de I : 100, il en est de même des pharmacopées allemande, belge, italienne, hollandaise, etc.

La pharmacopée espagnole exige le titre I : 400.

La pharmacopée anglaise exige le titre I : 2500.

La pharmacopée des Etats-Unis exige le titre I : 3000.

Ainsi, il existe de grandes différences entre les titres exigés par les différentes pharmacopées.

Les rapports que l'on peut établir entre ces titres correspondent-ils à la réalité ?

Une pepsine américaine titrant I : 3000 U. S. P. est-elle 30 fois plus active que celle de la pepsine officielle française ?

Le titre 100 belge ou allemand correspond-t-il au titre 100 français ? ou peut-on arriver à établir une correspondance entre les titres de ces différentes pepsines ?

L'essai du codex français est-il suffisamment exigeant ? n'y aurait-il pas lieu de le modifier ?

Les pharmacopées n'auraient-elles pas intérêt à posséder un dosage international permettant de normaliser ou standardiser la pepsine commerciale au point de vue activité ?

Ce sont ces problèmes que nous nous sommes proposés de résoudre et ce sont les résultats de nos recherches que nous allons exposer dans ce travail.

Nous avons divisé notre travail en 3 parties et 9 chapitres.

## 1<sup>re</sup> PARTIE

---

### LA PEPSINE ET SON ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE

---

|                                                                                                          | Pages |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CHAPITRE I. — <i>Généralités sur la pepsine</i> . . . . .                                                | 5     |
| A) Définition, origine, préparation.                                                                     |       |
| B) Activité protéolytique de la pepsine.                                                                 |       |
| CHAPITRE II. — <i>Mesure de l'activité protéolytique de la pepsine</i> .                                 | 10    |
| A) Conditions d'action.                                                                                  |       |
| B) Titrage de la pepsine.                                                                                |       |
| CHAPITRE III. — <i>Méthodes d'essai de la pepsine des pharmacopées française et étrangères</i> . . . . . | 14    |
| A) Essai de la Pharmacopée française.                                                                    |       |
| B) — — — — — belge.                                                                                      |       |
| C) — — — — — anglaise.                                                                                   |       |
| D) — — — — — des États-Unis.                                                                             |       |
| E) — — — — — allemande.                                                                                  |       |
| F) Autres essais étrangers.                                                                              |       |

---

## 2<sup>e</sup> PARTIE

---

### ÉTUDE DES DIFFÉRENTES MÉTHODES OFFICIELLES

---

|                                                                                                          | Pages |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CHAPITRE IV. — <i>Étude des matières passives employées</i> . . . . .                                    | 24    |
| A) Fibrine fraîche.                                                                                      |       |
| B) Fibrine sèche.                                                                                        |       |
| C) Albumine d'œuf coagulée.                                                                              |       |
| CHAPITRE V. — <i>Comparaison entre eux des divers essais officiels exposés dans ce travail</i> . . . . . | 30    |

|                                                                                                                                | Pages |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CHAPITRE VI. — <i>Détermination des titres de diverses pepsines suivant les pharmacopées française et étrangères</i> . . . . . | 35    |
| A) Titre des pepsines françaises suivant les pharmacopées étrangères.                                                          |       |
| B) Titre des pepsines étrangères suivant la pharmacopée française.                                                             |       |
| CHAPITRE VII. — <i>Titration des pepsines françaises et étrangères suivant un procédé commun</i> . . . . .                     | 57    |
| A) Matière passive. Edestine.                                                                                                  |       |
| B) Méthode de Fuld.                                                                                                            |       |
| C) Essais préliminaires.                                                                                                       |       |
| D) Titre des pepsines étrangères d'après la méthode de Fuld.                                                                   |       |

---

### 3<sup>e</sup> PARTIE

---

#### MODIFICATIONS DE L'ESSAI DU CODEX FRANÇAIS

---

|                                                                                      | Pages |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CHAPITRE VIII. — <i>Modifications proposées par différents auteurs</i> . . . . .     | 66    |
| A) Considérations générales.                                                         |       |
| B) Modification de la matière passive.                                               |       |
| C) Modification de la durée de l'essai.                                              |       |
| D) Modification du contrôle de la réaction.                                          |       |
| CHAPITRE IX. — <i>Essai de modification de la méthode du Codex de 1908</i> . . . . . | 71    |
| A) Augmentation du titre limite.                                                     |       |
| B) Substitution à la fibrine d'une matière albuminoïde facile à préparer.            |       |
| C) Diminution de la durée de l'essai.                                                |       |
| D) Modification du contrôle de la réaction.                                          |       |

---

### CONCLUSIONS

Nous sommes très sensible au grand honneur que nous a fait M. le Professeur GRIMBERT, en acceptant la présidence de notre thèse.

Nous exprimons notre vive gratitude à M. le Professeur FLEURY qui nous a accueilli si aimablement et si précieusement guidé au cours de notre travail.

Nous remercions également M. le Professeur HERISSEY d'avoir bien voulu faire partie du Jury.

Il est un agréable devoir pour nous de remercier M. BRENANS, notre Maître et Ami, ainsi que notre Confrère M. HUCHET, Directeur des Usines du Pecq, qui ont encouragé nos efforts, prodigué leurs conseils et dont nous avons mis l'amabilité tant de fois à contribution.

---

## PREMIÈRE PARTIE

---

### LA PEPSINE ET SON ACTIVITE PROTÉOLYTIQUE

---

#### CHAPITRE PREMIER

---

#### Généralité sur la Pepsine

---

Dans ce chapitre, nous allons rappeler brièvement les propriétés de la pepsine, nous attachant surtout aux notions qui permettront de mieux comprendre les variations de son activité diastasique.

##### A) Définition, Origine, Préparation

La pepsine ( $\pi\epsilon\psi\iota\sigma$  coction, digestion), est un ferment (diastase ou zymase) capable d'hydrolyser certaines matières albuminoïdes en milieu acide.

Elle a été découverte par Schwann en 1836, isolée par Wasmann en 1839 et introduite dans la thérapeutique par Corvisart, vers 1852 [28].

Si des ferments analogues à la pepsine ont été rencontrés un peu partout dans les règnes végétal et animal, la pepsine est avant tout la substance active du suc gastrique chez les vertébrés [6].

Elle est sécrétée chez l'homme par les cellules dites principales des glandes fundiques, les cellules des glandes pyloriques n'en fournissant que de petites quantités [37].

Sa constitution n'est pas encore bien connue,

On sait qu'elle est composée des éléments C. H. O. S. Ph. Fe. et Cl. (ce dernier peut-être à l'état de combinaison organique), qu'elle se dédouble en nucléo-protéide, albumose, lécithine, acide chlorhydrique [22].

Elle précipite par les réactifs généraux des substances protéiques.

Armand Gautier a séparé la pepsine brute en trois diastases : une pepsine insoluble arrêtée par le filtre de biscuit et deux autres diastases dont l'une peptonise imparfaitement la fibrine (pepsine imparfaite ou pro-pepsine) et l'autre ayant un pouvoir digestif complet [24].

La pepsine possède les propriétés des colloïdes ; elle ne dialyse pas, ne cristallise pas, ne diffuse pas, est visible à l'ultramicroscope et présente la propriété d'adsorber et de flocculer.

Les pharmacopées prescrivent d'utiliser pour sa préparation l'estomac du porc et les caillottes du mouton et du veau que l'on trouve abondamment dans les abattoirs.

Or, si les glandes fundiques se trouvent réparties dans l'estomac humain, non seulement dans la partie fundique de la grande courbure, mais un peu partout dans la muqueuse stomacale, elles sont localisées dans l'estomac du porc uniquement dans la partie droite [9].

Cette partie rouge et spongieuse correspond à la caillotte des ruminants, elle fait contraste avec la partie gauche blanche et un peu sèche et fournit deux fois plus de pepsine. Enfin, chez le mouton et le veau, les glandes fundiques sont encore plus localisées puisqu'on ne les trouve que dans la muqueuse du quatrième estomac ou caillotte.

Quoi qu'il en soit les muqueuses stomacales sont très altérables, des phénomènes d'auto-digestion se produisent post-mortem, aussi, doit-on les employer aussi fraîches que possible.

Les modes de préparation de la pepsine sont nombreux.

La commission du Codex de 1866 avait fixé un mode de préparation dans lequel on faisait macérer des muqueuses de caillottes de ruminants ou de l'estomac de porc dans de l'eau. On précipitait la pepsine par le sous-acétate de plomb, on éliminait le plomb par l'hydrogène sulfuré et on séparait le sulfure de plomb par filtration. Le filtrat était évaporé sur des assiettes à une tem-

pérature inférieure à 44°. On obtenait ainsi une pâte ferme, de couleur ambrée, mais cette pepsine officinale était peu active.

Le procédé de Petit qui consistait à faire digérer les muqueuses gastriques dans de l'eau distillée contenant 5 pour 100 d'alcool et à évaporer le digestat à 40° dans des vases plats, marquait déjà un grand progrès sur le procédé du Codex de 1866, puisque, d'après Petit, on obtenait suivant ce procédé des pepsines titrant 1000 [29].

Le procédé industriel le plus employé consiste à faire une macération de muqueuse dans l'eau acidulée, à chauffer à 45° pendant 5 heures, tout en agitant. On siphonne le liquide surnageant, on filtre. Le filtrat est évaporé sur des assiettes en porcelaine au B. M. à 40-44°.

D'autres procédés qui ne sont encore que des procédés de laboratoire, tels les procédés de Kühne, de Brücke, de Gautier, utilisent l'artifice de la dialyse pour purifier les pepsines obtenues par macération et précipitation.

La pepsine préparée au moyen du procédé de Gautier, par exemple, digère plusieurs milliers de fois son poids de fibrine dans les conditions du Codex [3].

J.-C. Forbes est parvenu ces années dernières à purifier les pepsines en utilisant leurs propriétés d'adsorption par des corps, tels que l'hydroxyde d'aluminium et la safranine; il a obtenu ainsi des pepsines titrant 1 : 70000 U. S. P., c'est-à-dire dont une partie digère 70.000 parties d'albumine suivant les conditions de l'essai des Etats-Unis [3].

Cependant, malgré les perfectionnements apportés aux procédés d'extraction de la pepsine, elle renferme souvent des quantités variables de principe actif mélangés à un grand nombre de substances : syntonine, albumoses et peptones résultant de son action sur les muqueuses gastriques pendant la préparation.

### **B) Activité Protéolytique de la Pepsine**

La détermination de l'activité de la pepsine est basée sur ses propriétés protéolytiques, c'est-à-dire son action hydrolytique sur les substances protéiques.

Si on introduit de la fibrine dans une solution acide de pepsine, on constate tout d'abord qu'elle commence par augmenter de volume. A la température de 50°, cette masse spongieuse ne tarde pas à se dissoudre. Le produit qui correspond à cette première phase de dissolution s'appelle syntonine ou acide albumine; elle est due surtout à l'action directe de l'acide chlorhydrique sur la fibrine.

Les albumoses et peptones se forment après cette première phase; ces corps diffèrent des albumines en ce qu'ils peuvent dialyser et qu'ils sont incoagulables par la chaleur en présence des acides.

Si on poursuit la digestion, le filtrat, qui précipitait par l'acide azotique, ne précipite plus; à ce stade, qui est appelé stade de peptonisation, l'albumine est complètement transformée.

Les peptones proviennent de la dégradation d'albumoses et on peut constater leur présence dans la digestion de la fibrine par la réaction du biuret.

Les derniers termes de la digestion pepsique sont formés surtout par des polypeptides ou peptoides constitués d'après les travaux de Fischer par des associations d'acides aminés [11] ne donnant pas la réaction « du biuret », alors que dans la digestion trypsique, au contraire, la dégradation des albumoses est poussée jusqu'aux acides aminés.

Telles sont les phases principales de la digestion pepsique.

En réalité, la transformation ne se poursuit pas d'après un rythme régulier et l'ordre schématique que nous avons indiqué; elle varie avec chaque substance albuminoïde.

Nous signalerons tout d'abord que la fibrine ne se dissout pas complètement, car ce n'est pas une albumine à l'état de pureté; il reste toujours un résidu insoluble que Meissner a appelé « dyspeptone ». Cette dyspeptone est une nucléine provenant du noyau des cellules non attaquées [38].

Dans la deuxième phase ou phase de syntonisation, l'albumine ne se transforme pas complètement en syntonine, car si l'on précipite la syntonine en neutralisant la liqueur digestive, le filtrat donne encore à l'ébullition un coagulum qui paraît être de la fibrine dissoute sans modification [39].

Dans la phase de peptonisation, les sels (sulfate d'ammoniaque, de magnésie, etc ), permettent de différencier les albumoses des peptones ; cependant leurs propriétés sont tellement voisines que, en dehors de l'action des sels, l'on a peine à les séparer par les réactifs précipitants. D'autre part, si on fait les réactions caractéristiques de ces corps à divers moments de la digestion, on peut constater la réaction du « biuret » positive au début de la digestion ; certaines albumoses se transformant plus rapidement que les autres en peptones.

Certains auteurs ont même prétendu que les albumoses ne forment pas le stade intermédiaire entre les albumines et les peptones, mais proviendraient d'albumines différentes [21].

Enfin, dans la digestion pepsique se forment des quantités extrêmement faibles d'acides aminés libres, tels que leucine, tyrosine, alanine, et encore cette faible quantité d'acides-amino paraît provenir du fait que la matière passive renferme de petites quantités de trypsine.

---

## CHAPITRE II

---

### **Mesure de l'Activité protéolytique de la Pepsine**

---

#### A) Conditions d'Action

L'activité de la pepsine dépend de conditions multiples, dont les principales sont la température et la réaction du milieu. Nous n'entrerons pas dans les détails de cette question; nous nous contenterons de résumer les conclusions des nombreux ouvrages publiés sur ce sujet.

Au point de vue de l'action directe de la température sur la pepsine, on peut dire que ce ferment résiste mieux à la chaleur sèche qu'à la chaleur humide.

Elle ne perdrait pas ses propriétés protéolytiques à la chaleur sèche à 100° [23].

La température optima d'action diffère suivant les conditions expérimentales, le substratum, et même l'origine de la diastase [23]. On peut dire seulement qu'elle est comprise entre + 37 et + 50° et qu'à + 60°, la pepsine perd ses propriétés.

De même, l'activité de la pepsine change avec la réaction du milieu. Alors que la papaïne agit en milieu alcalin ou acide, que la trypsine agit en milieu neutre ou alcalin, la pepsine n'agit qu'en milieu acide.

Les nombreux auteurs ayant étudié cette question ont établi les points suivants :

1° Il existe une acidité favorable à la digestion pepsique. Cette acidité optima dépend de la matière albuminoïde employée

comme matière passive [10], de la teneur en pepsine [33]; ainsi, de même qu'un excès d'acide, un excès de pepsine peut entraver la digestion pepsique.

2° L'acide chlorhydrique est l'acide le plus favorable à l'action de la pepsine; c'est l'acide qui en solution est le plus dissociable en ions H et Cl. En somme l'activité de la pepsine dépend surtout de la quantité d'ions H mis en liberté dans le milieu; elle présente un P. H. optimum d'action.

### B) Titrage de la Pepsine

Dans chaque procédé de titrage de la pepsine, les auteurs ont fixé la fin de la réaction à des phases différentes de la dégradation protéique; les uns, s'arrêtant en stade syntonine, les autres au stade albumose.

Nous allons passer en revue quelques-uns de ces procédés

Bidder et Schmitt [38] faisaient diriger à la température de 45° des petits cubes de blanc d'œuf coagulé d'un poids connu par une solution chlorhydrique de pepsine à 2 0/0. La perte de poids de ces petits cubes donnait, d'après eux, la mesure du pouvoir digestif de la pepsine.

Grünhagen [18] faisait gonfler de la fibrine dans de l'acide chlorhydrique à 2 0/0, jetait la gelée épaisse sur un entonnoir bouché par du coton de verre, exposait le tout dans une étuve chauffée à + 45° et faisait tomber sur cette gelée un nombre déterminé de gouttes de solution de pepsine à essayer. Sitôt que la fibrine était liquéfiée, elle tombait goutte à goutte de l'entonnoir et d'autant plus vite dans un temps donné, que la pepsine était plus active.

Le procédé de Mett [1] consiste à faire agir une solution acide de pepsine sur de l'albumine coagulée dans un petit tube et à mesurer la hauteur du cylindre d'albumine dissoute. L'activité de la pepsine est déterminée par cette hauteur.

Le procédé de Léon Meunier [26] consiste à mesurer le temps qui s'écoule entre le moment où l'on introduit une corde de filandre d'un calibre bien déterminé dans un milieu digestif et celui où elle est complètement dissoute,

La filandre est fabriquée uniquement avec la couche musculaire de l'intestin du mouton. Elle diffère du catgut qui est constitué par les couches muqueuses et sous-muqueuses de l'intestin, et par conséquent, plus hétérogène.

On se sert pour cela d'une petite bille de verre, colorée au bleu de méthylène, enveloppée dans du caoutchouc très mince ligaturé au moyen d'une corde de filandre. Ce nouet est introduit dans une solution acide de pepsine et on porte le tout à l'étuve à  $+ 37^{\circ}$ . A un moment donné, la filandre est complètement dissoute, la membrane de caoutchouc se déploie et la bille de verre ainsi en contact avec le liquide, le colore en bleu. Si on a eu soin de noter le temps qui s'écoule entre le début de l'opération et la coloration bleue on connaît ainsi la vitesse de la digestion pepsique.

Dans les procédés décrits ci-dessus, on ne tient compte que du pouvoir dissolvant de la pepsine, c'est-à-dire, de la transformation des matières passives en albumines solubles et non du pouvoir de peptonisation de la pepsine, c'est-à-dire de la transformation de l'albumine en albumoses et peptones.

La méthode de Jacoby [12], consiste à faire agir, soit à froid, soit à  $+ 37^{\circ}$ , une solution chlorhydrique de pepsine sur une émulsion de ricine et à noter le moment où l'émulsion s'éclaircit; à ce moment la ricine est digérée.

Dans la méthode de Fuld [16], on fait agir la pepsine sur une albumine végétale retirée du chanvre appelée édestine.

On opère la réaction à la température ordinaire du laboratoire.

On met dans de petits tubes de même calibre (genre tubes à hémolyse) une dose fixe de solution d'édestine, on y ajoute une solution chlorhydrique de pepsine à doses croissantes. On maintient la même concentration dans chaque tube au moyen de doses décroissantes de solution chlorhydrique; on précipite au bout d'un temps donné l'édestine non transformée par une solution de chlorure de sodium. On remarque le tube à partir duquel le trouble n'est plus apparent; la quantité de pepsine correspondant à ce tube répond à l'essai. On opère comparativement avec une pepsine à titre connu.

Michaëlis [27] fait agir à  $40^{\circ}$  du suc gastrique dilué suivant une

progression arithmétique ( $1/1$   $1/2$   $1/4$   $1/8$   $1/16$ ) sur du sérum de mouton dilué rendu opalescent au moyen d'acide sulfosalicylique, la fin de la réaction correspond à l'éclaircissement du sérum.

On opère également avec une solution chlorurée de pepsine à titre connu qui sert d'étalon. Si la dilution  $1/8$ , par exemple, s'éclaircit en même temps que le tube étalon, on dit que le suc gastrique contient 8 unités de pepsine.

Un procédé signalé par Bertrand et Thomas dans leur guide pour les manipulations de chimie biologique, exige une digestion plus complète des matières albuminoïdes du sérum sanguin. Ces auteurs, pour comparer l'activité de diverses préparations de pepsine, les font agir dans des conditions bien déterminées sur un excès de sérum de cheval et dosent ensuite, par la méthode de Sørensen, la quantité de groupements aminés mis en liberté [4].

Tous ces procédés de titrage diffèrent les uns des autres en ce que leurs conditions sont différentes et qu'ils utilisent des albumines différentes, soit de nature animale comme la fibrine, l'albumine d'œuf, le sérum sanguin et la filandre, soit d'origine végétale comme l'édestine et la ricine; mais ils ont tous ceci de commun, à savoir qu'ils ont tous besoin d'une solution étalon de pepsine comme terme de comparaison. Il était cependant intéressant de signaler ces procédés de titrage, car ils peuvent être employés pour déterminer l'activité d'une pepsine commerciale comparativement avec une autre pepsine à titre connu.

---

## CHAPITRE III

---

### **Méthodes d'Essai de la Pepsine des pharmacopées Françaises et Etrangères**

---

Il est important pour le pharmacien, non pas de connaître le titre exact d'une pepsine, mais de vérifier si son titre répond au titre minimum exigé par la pharmacopée.

La pharmacopée française avait besoin d'un essai officiel pour déterminer l'activité d'une pepsine dite « médicinale ».

La commission de 1865 adopta la fibrine humide en milieu chlorhydrique. Le Codex de 1866 remplaça l'acide chlorhydrique par l'acide lactique. Celui de 1884 substitua l'acide chlorhydrique à l'acide lactique ; il précisa en outre les conditions d'essai qui étaient les suivantes :

|                                 |          |
|---------------------------------|----------|
| Pepsine médicinale.....         | 0 gr. 50 |
| Eau distillée.....              | 60 gr.   |
| Acide chlorhydrique officinal.. | 0 gr. 60 |
| Fibrine fraîche.....            | 10 gr.   |

Placer le flacon dans une étuve à eau chaude dont la température devra être maintenue à + 50°. Faites digérer pendant 6 heures et agiter fréquemment jusqu'à dissolution de la fibrine, puis toutes les heures environ.

10 cm<sup>3</sup> de la liqueur refroidie et filtrée ne doivent pas se troubler par l'addition de x à xxx gouttes d'acide azotique ; l'alcool détermine au contraire, un précipité blanc abondant.

Le Codex de 1908 a apporté des modifications importantes à

l'essai de la pepsine en diminuant l'acidité du milieu qu'il a portée à 0 gr. 15 d'acide chlorhydrique pur. Il a modifié également la prise d'essai qu'il a ramenée à 0 gr. 10.

#### A) Essai du Codex Français

La méthode du Codex français 1908 est la suivante :

|                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| Pepsine.....                   | 0 gr. 10  |
| Eau distillée.....             | 58 gr. 50 |
| Acide chlorhydrique dilué .... | 1 gr. 50  |
| Fibrine desséchée.....         | 2 gr. 50  |

Dans un flacon à large ouverture, introduisez la fibrine, l'eau distillée et l'acide chlorhydrique dilué ; placez ce flacon dans une étuve ou un B. M. chauffé à + 50° jusqu'à ce que le mélange ait atteint la même température ; ajoutez alors la pepsine et faites digérer pendant 6 heures en ayant soin, au début, d'agiter fréquemment jusqu'à dissolution complète de la fibrine, et ensuite toutes les heures environ.

Laissez refroidir et filtrez.

10 cm<sup>3</sup> de la liqueur ainsi obtenue et filtrée ne doivent pas, à la température ordinaire, se troubler par l'addition de 20 gouttes d'acide azotique officinal.

Dans cet essai, on peut remplacer la fibrine sèche par 10 grammes de fibrine fraîche ; il faut alors réduire à 51 grammes la proportion d'eau distillée.

Quant aux pepsines amylacées et lactosées, elles doivent, à la dose de 0 gr. 25, répondre à l'essai précité.

Le supplément du Codex ajoute :

« La pepsine, dans les conditions de l'essai suivant, doit peptoniser au moins 100 fois son poids de fibrine essorée ».

« Quant aux pepsines amylacées, elles doivent peptoniser d'après l'essai au moins 40 fois leur poids de fibrine humide ».

De plus, le supplément précise, à la suite des remarques de Portes et de Bourquelot [3 - p. 761], que la température à laquelle sera refroidi le digestat avant l'addition d'acide azotique, doit être strictement comprise entre 17 et 19°.

B) Essai de la Pharmacopée Belge

D'après la pharmacopée belge, la pepsine a les propriétés suivantes :

« C'est une poudre blanche ou blanc jaunâtre à réaction légèrement acide, sans odeur désagréable et de saveur faible. Généralement, elle est additionnée de sucre de lait ».

Essai. — On maintient 10 minutes dans l'eau bouillante un œuf de poule frais. Après refroidissement, on détache le blanc qu'on divise en le faisant passer à travers un tamis n° 10.

D'autre part, on dissout par trituration 0 gr. 1 de pepsine dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau contenant 0 gr. 25 d'acide chlorhydrique. On verse la solution dans un ballon d'environ 200 cm<sup>3</sup>. On y ajoute 10 grammes du blanc d'œuf. On agite et on chauffe au B. M. à + 40°, en agitant de temps en temps.

Après une heure de digestion, le blanc d'œuf est dissous en laissant seulement quelques petits flocons.

Le supplément du Codex belge 1912 précise “ 100 cm<sup>3</sup> d'eau titrant 0 gr. 25 pour 100 d'acide chlorhydrique Hcl (soit dans le mélange 3 cm<sup>3</sup> 5 d'acide chlorhydrique et 96 cm<sup>3</sup> 5 d'eau distillée).

On voit que dans les conditions de la pharmacopée Belge, la pepsine devrait dissoudre au moins 100 fois son poids d'albumine d'œuf coagulée et désagrégée.

REMARQUES AU SUJET DE CET ESSAI. — Nous voyons que dans cet essai on coagule l'albumine pendant 10 minutes et qu'on la tamise mais qu'on ne la désagrège ni au mortier (comme nous le verrons dans le procédé anglais), ni avec un agitateur à bout rodé (comme dans le procédé américain). Ces deux procédés seront exposés plus loin.

On remarque que la pharmacopée belge prescrit de dissoudre la pepsine dans la solution chlorhydrique, puis d'y ajouter l'albumine et de porter le mélange à la température requise.

Cette température qui se rapproche, il est vrai, de la température physiologique de digestion, est inférieure à celle de l'essai du Codex français.

Enfin le contrôle de la réaction, dans cet essai, n'est pas déli-

mité avec précision. On se contente d'observer une dissolution plus ou moins complète de l'albumine et nous verrons, du reste, que bien des essais des pharmacopées étrangères employant l'albumine d'œuf présentent cette même imprécision. En se basant sur des remarques analogues à celles que nous venons de signaler, MM. Castille et Pourbaix [8] ont préconisé un essai plus précis, que nous allons décrire :

On maintient pendant 10 minutes dans l'eau en ébullition un œuf de poule conservé au frais et vieux de deux à dix jours.

Après refroidissement, on enlève le blanc qu'on divise en le faisant passer par frottement dans le tamis n° 100. On introduit 10 grammes dans un mortier, on y ajoute 0 gr. 10 de pepsine puis, petit à petit, tout en triturant vigoureusement, 60 cm<sup>3</sup> d'eau distillée chauffée à + 50° contenant 3 cm<sup>3</sup> 5 d'acide chlorhydrique dilué officinal. On introduit ce liquide dans un matras d'environ 250 cm<sup>3</sup> et on rince le mortier avec 40 cm<sup>3</sup> d'eau distillée chauffée à + 50°. On plonge le ballon dans un bain d'eau, chauffé de telle façon qu'un thermomètre maintenu dans le liquide pepsique marque constamment + 45°. On agite de une à dix minutes. Après deux heures de digestion, on verse le contenu du ballon dans une éprouvette cylindrique de 100 cm<sup>3</sup> de capacité et d'un diamètre qui ne dépasse pas trois centimètres. On laisse reposer pendant 4 heures; le dépôt ne peut être supérieur à deux centimètres cubes.

Ainsi, MM. Castille et Pourbaix prescrivent de triturer l'albumine avec la pepsine dans la solution acide comme dans le procédé anglais et américain.

Eu outre, ils opèrent la trituration de l'albumine et de la pepsine dans l'eau préalablement portée à la température de + 50°. La digestion est opérée à + 40°.

La pepsine, de cette façon, n'a pas son pouvoir digestif modifié par le contact de l'eau acidulée avant d'entrer en digestion, et l'albumine ne risque pas d'être plus ou moins transformée avant l'introduction de la pepsine.

Cet essai se rapproche, comme nous le verrons par la suite, de celui de la pharmacopée des Etats-Unis, quant au contrôle de la digestion; on observe, en effet, le dépôt d'albumine au bout

d'un temps donné. Il a l'inconvénient de demander plusieurs heures avant qu'on puisse faire la lecture, et on a ainsi, un essai aussi long et moins précis que celui de la pharmacopée anglaise.

### C) Essai de la Pharmacopée Anglaise

D'après la pharmacopée anglaise, la pepsine est une diastase obtenue avec les estomacs frais et sains de porc, mouton, veau.

« C'est une poudre brun jaunâtre, pâle, ou écailles translucides, ayant une odeur faible. Elle doit être capable dans les conditions ci-dessus, de liquéfier 2500 fois son poids de blanc d'œuf en l'espace de six heures. La solution obtenue étant faiblement opalescente ».

La pharmacopée anglaise prescrit pour la pepsine le mode d'essai suivant :

1° *Blanc d'œuf*. — Préparer un blanc d'œuf coagulé en faisant bouillir des œufs frais dans l'eau pendant 15 minutes. Les tremper dans de l'eau froide jusqu'à ce qu'ils soient froids. Séparer les blancs; les passer à travers un tamis ayant 12 mailles au centimètre. Le produit doit être utilisé avant qu'il ait perdu de l'humidité par évaporation.

2° *Solution de pepsine*. — Triturer 0 gr. 25 de pepsine avec 1 gramme de chlorure de sodium dans un petit mortier jusqu'à mélange intime. Ajouter de l'eau acidulée (3°) et continuer à triturer; transvaser dans un flacon jaugé de un litre. Laver le mortier à l'eau acidulée et ajouter les eaux de lavage au contenu du flacon de façon à obtenir 1000 cm<sup>3</sup>.

Agiter fréquemment pendant 6 heures et immédiatement avant de s'en servir.

3° *Eau acidulée*. — Obtenue en préparant et diluant 6 cm<sup>3</sup> 5 d'acide chlorhydrique à 1000 cm<sup>3</sup> avec eau distillée.

4° *Titrage*. — 20 cm<sup>3</sup> de la solution de pepsine ainsi obtenue (2°) sont introduits dans un flacon de 250 cm<sup>3</sup>. Triturer d'autre part, 12 gr. 50 de blanc d'œuf fraîchement préparé (1°) dans un petit mortier avec 50 cm<sup>3</sup> d'eau acidulée jusqu'à obtention de granules uniformes.

Transvaser dans le flacon de 250 cm<sup>3</sup>, rincer le mortier avec 50 cm<sup>3</sup> nouveaux d'eau distillée acidulée, les ajouter dans le flacon.

Immerger ce flacon dans un B. M. de telle façon que son contenu soit à un niveau plus bas que l'eau dans le B. M., faire digérer à +40-44° en agitant à intervalles de 15 minutes pendant 6 heures.

REMARQUES AU SUJET DE CET ESSAI. — Ce procédé est remarquable par la précision de ses détails ; mais il a l'inconvénient d'être très long.

Dans ce procédé on laisse la pepsine en contact avec la solution chlorhydrique pendant 6 heures.

Nous nous sommes demandés si en variant légèrement ce temps de contact, nous n'aurions pas de différence dans nos résultats.

Pratiquement, les résultats que nous avons obtenus sont les mêmes avec des solutions de pepsine vieilles de 6 heures, 12 heures et 24 heures.

Ainsi, dans l'essai anglais, entre 6 et 24 heures, le pouvoir digestif de la pepsine ne semble pas modifié ; on peut donc laisser la pepsine toute une nuit en contact avec la solution chlorhydrique et commencer l'essai le lendemain matin, à condition d'agiter le plus souvent possible cette solution.

La matière passive est préparée en coagulant exactement pendant 15 minutes un œuf de poule frais. La pharmacopée anglaise fait remarquer judicieusement que l'albumine doit être employée avant qu'elle ait perdu de l'eau par évaporation.

On peut préparer la solution acide en mesurant à l'aide d'une bonne burette les 6 cm<sup>3</sup> 5 d'acide chlorhydrique dans un peu d'eau distillée et en complétant le volume à 1000 cm<sup>3</sup>.

Nous employons dans cet essai 20 cm<sup>3</sup> de solution de pepsine à 0 gr. 25 pour 1000, ce qui correspond à 0 gr. 005 de pepsine.

Ces 5 cg. devront dissoudre dans les conditions du Codex anglais 12 gr. 50 de blanc d'œuf, soit 2.500 fois leur poids.

#### D) Essai de la Pharmacopée des Etats-Unis

Cette pharmacopée exige que la pepsine digère au moins 3000

fois son poids d'albumine d'œuf fraîchement préparée et désagrégée.

Il ne s'agit pas là d'une vraie digestion, mais en réalité d'une tranformation peu profonde de la matière passive, puisque cette pharmacopée n'admet, comme nous allons le voir, qu'une liquéfaction approximative de l'albumine.

ESSAI. — Mélanger 25 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique normal avec 275 cm<sup>3</sup> d'eau distillée.

Dissoudre 0 gr. 10 de pepsine dans 150 cm<sup>3</sup> de cet acide.

Choisir un œuf de poule qui ait entre 5 et 12 jours et ait été conservé en lieu frais, et l'immerger dans l'eau bouillante durant 15 minutes.

Aussitôt que l'œuf est suffisamment refroidi pour qu'on puisse le saisir, enlever la coque, la pellicule et tout le jaune et passer l'albumine à travers un tamis n° 40 soit de crin, soit métallique, bien propre et bien sec.

Rejeter la première portion qui passe, et placer 10 gr. de la suivante dans un flacon de 100 cm<sup>3</sup> à large ouverture.

Ajouter immédiatement 20 cm<sup>3</sup> de l'acide et bien agiter le mélange avec un agitateur rodé à bout de caoutchouc de façon à séparer soigneusement les particules d'albumine les uns des autres.

Rincer l'agitateur avec 15 cm<sup>3</sup> nouveaux de l'acide, et après avoir chauffé le mélange à + 52°, ajouter exactement 5 cm<sup>3</sup> de la solution acidulée de pepsine. Enfin boucher le flacon soigneusement, le renverser trois fois et le placer dans un bain soigneusement réglé de façon qu'il se maintienne à + 52°.

Laisser le flacon à cette température pendant 2 h. 1/2 en agitant le contenu toutes les dix minutes en le retournant.

L'enlever alors du bain, verser le contenu dans une fiole conique d'un diamètre ne dépassant pas un centimètre au sommet, et transporter l'albumine d'œuf non digérée qui adhère aux parois du flacon dans la fiole à l'aide de petites quantités d'eau distillée, (15 cm<sup>3</sup> environ à la fois) jusqu'à ce que la masse totale employée mesure 50 cm<sup>3</sup>. Bien agiter le mélange et laisser déposer 1/2 heure.

L'albumine déposée non digérée ne doit pas mesurer plus de 1 cm. de hauteur.

Le pouvoir protéolytique de la pepsine (plus grand ou plus faible que celui qui vient d'être décrit) peut être déterminé en fixant par des essais répétés la quantité de solution de pepsine, faite comme il a été indiqué dans l'essai, nécessaire pour digérer dans les conditions fixées, 10 grammes d'albumine d'œuf désagrégée. En divisant 15000 par cette quantité exprimée en  $\text{cm}^3$  on saura combien de parties d'albumine d'œuf, une partie de pepsine peut digérer.

REMARQUES AU SUJET DE CET ESSAI. -- Nous voyons que l'essai de la pharmacopée américaine a une durée plus courte que celle des essais anglais et français, mais qu'il ne tient compte que d'une liquéfaction approximative de l'albumine d'œuf.

Cet essai est encore plus arbitraire que ceux des pharmacopées précédentes.

Nous allons indiquer dans quelles conditions nous avons effectué l'essai américain.

Pour cet essai, nous avons préparé avec le même soin l'albumine, comme pour les essais belge et anglais.

Les Américains admettent que l'œuf de poule peut être employé au bout de douze jours ; nous nous sommes contentés d'employer des œufs n'ayant pas plus de 6 jours. La tamisation a été opérée au moyen d'un tamis ayant 40 mailles au pouce anglais, soit 15 mailles au centimètre.

La dilution dans l'essai a été constante ; ainsi, lorsqu'au lieu de 5  $\text{cm}^3$  de solution de pepsine, nous en avons employé 6 ou 7  $\text{cm}^3$  5, nous n'avons rincé l'agitateur qu'avec 14 ou 12  $\text{cm}^3$  5 de de solution acide, pour obtenir un total de véhicule acide de 40  $\text{cm}^3$ .

Nous avons employé comme vases d'essais des flacons à paroi mince et munis d'un bouchon de verre pour qu'on puisse les retourner et les agiter comme l'indique la pharmacopée des Etats-Unis (l'albumine pouvant adhérer à un bouchon de coton ou de liège).

Nous avons admis qu'une pepsine satisfaisait à l'essai lorsque l'albumine déposée au bout d'une demi-heure mesurait environ 0  $\text{cm}^3$  9.

La capacité des vases coniques employés n'étant pas spécifiée

dans cet **essai**, nous nous sommes servis de flacons identiques les uns aux autres et ayant 70 cm<sup>3</sup> de capacité.

On prend dans cet **essai** 5 cm<sup>3</sup> de solution acide de pepsine à 0 gr. 1 pour 150 ou 0 gr. 66 pour 1000, les 5 cm<sup>3</sup> correspondent donc à :

$$\frac{0.66 \times 5}{1000} = 0 \text{ gr. } 00333$$

Ces 0 gr. 00333 doivent dissoudre imparfaitement 10 grammes d'albumine.

Si ces 0 gr. 00333 de pepsine dissolvaient complètement les 10 grammes d'albumine, ils en dissoudraient 3333 fois leur poids.

Mais ces conditions ne sont pas tout-à-fait réalisées et une pepsine qui satisfait aux conditions de l'essai américain a un titre un peu inférieur à 3333, en chiffre rond 3000.

Si, en effet, on divise 15000 (chiffre donné par la pharmacopée américaine) par le nombre de cm<sup>3</sup> de solution de pepsine employés, on obtient le titre de la pepsine soit :

$$\frac{15\,000}{5} = 3.000 \text{ (titre limite) ou I : 3.000 U. S. P.}$$

$$\frac{15.000}{3} = 5.000 \text{ ou I : 5.000 U. S. P.}$$

Ainsi, pour satisfaire aux exigences du Codex américain, si on emploie 5 cm<sup>3</sup> de solution de pepsine au titre 5.000 on ne devra employer que 3 cm<sup>3</sup> de solution de pepsine au titre 5.000. En résumé, cet **essai** détermine dans une certaine limite le titre exact d'une pepsine.

#### E) **Essai de la Pharmacopée Allemande**

D'après cette pharmacopée, la pepsine est une enzyme retirée de la muqueuse stomacale des porcs, moutons ou veaux et mélangée au sucre de lait.

**ESSAI** — On met un œuf de poule dans l'eau bouillante pendant 10 minutes. Après refroidissement immédiat à l'eau froide, le blanc doit être réduit en poudre grossière, à l'aide d'un tamis approprié. On met 10 grammes de ce blanc d'œuf dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau à + 50°, puis 0,5 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique, et on ajoute 0 gr. 1 de pepsine,

On maintient ce mélange que l'on agite tous les quarts d'heure environ à  $+ 45^{\circ}$  pendant 3 heures. Au bout de ce temps le blanc d'œuf doit être dissous, sauf quelques petites pellicules blanc jaunâtre.

REMARQUES AU SUJET DE CET ESSAI. — Nous remarquons que dans cet essai on ne parle pas de la tamisation de l'albumine ; il est seulement recommandé de réduire l'albumine en une espèce de « poudre grossière ».

On n'y parle pas non plus de la désagrégation au mortier (voir la remarque que nous avons faite au sujet de l'essai de la pharmacopée belge).

Nous pouvons donc dire que l'essai de la pharmacopée allemande n'est pas précis dans ses détails. Il a le seul avantage de tenir compte de la diminution d'activité de la pepsine, provenant de l'acide chlorhydrique à froid sur celle-ci, avant la mise en digestion à la température de  $+ 45^{\circ}$ . (Dans cet essai, on porte en effet la solution chlorhydrique à la température de  $+ 50^{\circ}$  avant d'ajouter la pepsine).

#### F) Autres essais Étrangers

Nous venons d'exposer parmi quelques procédés d'essais ceux qui nous ont paru les plus précis.

Si la plupart des pharmacopées étrangères emploient l'albumine d'œuf, certaines n'indiquent pas le temps de coagulation comme les pharmacopées italienne et russe, ni ne précisent le temps de digestion comme la pharmacopée suisse.

La pharmacopée espagnole, à l'instar de la pharmacopée française emploie la fibrine ; cependant elle met en jeu une concentration excessivement forte en cette matière albuminoïde ; dans cet essai on ne tient compte pour déterminer le pouvoir protéolytique d'une pepsine que du pouvoir dissolvant de celle-ci.

Les essais de la pharmacopée française avec ceux des pharmacopées roumaine, suisse et italienne semblent être les plus rigoureux, quant à la détermination de la fin de l'essai ; cependant ces pharmacopées ne précisent pas les conditions dans lesquelles doit être opéré l'essai azotique. (Voir tableau page 33).

## DEUXIÈME PARTIE

---

### ÉTUDE DES DIFFÉRENTES MÉTHODES EMPLOYÉES

---

#### CHAPITRE IV

---

#### **Etude des matières passives employées**

---

##### A) Fibrine fraîche

La fibrine est une globuline formant l'essentiel du caillot sanguin et résultant de l'action d'une enzyme, la « Plasmase », sur le fibrinogène.

La fibrine de porc a été adoptée par le Codex. Les fibrines du mouton, du veau, du cheval ont été employées par des auteurs différents suivant leurs préférences. Il faut rejeter, surtout, la fibrine de bœuf, dont les filaments sont les plus volumineux et plus lentement digérés.

PRÉPARATION. — Dans les abattoirs on l'obtient en battant le sang avec des balais en osier ; cependant, il est préférable de battre le sang avec balais métalliques, en fer galvanisé par exemple, car les premiers peuvent laisser dans le sang des petits éclats de bois,

Lorsque la fibrine est bien blanche, on peut la laisser tremper dans l'eau plusieurs heures, à condition que cette dernière soit additionnée d'un peu de chloroforme. Cette addition n'est pas à recommander si l'on procède à l'essai immédiatement, et si le sang a été proprement recueilli. On a essayé de conserver la fibrine dans l'eau additionnée de fluorure de sodium, mais dans ce procédé l'on est obligé de laver la fibrine à l'eau bouillante jusqu'à disparition complète du fluorure.

Hammarsten et Hédin [19] ont fait observer que la fibrine crue se dissout assez facilement sous l'influence des acides seuls. C'est pourquoi ils recommandent d'employer pour le titrage des pepsines de la fibrine préalablement soumise à l'ébullition ; mais dans ce cas il se produit une coagulation et elle est moins attaquable par la pepsine.

Aussi, nous ne recommanderons ni ce procédé, ni celui au fluorure de sodium. Dans le Codex français on emploie 10 grammes de fibrine fraîche ou 2 grammes 50 de fibrine sèche. La crainte de quantité d'eau variable, qui peut rester dans les filaments de fibrine, a fait rejeter la fibrine fraîche par les opérateurs consciencieux. Néanmoins, pour les essais approximatifs, elle peut rendre service lorsqu'on n'a pas à sa disposition de fibrine sèche.

Il est très simple dans ce cas de faire un double essai avec la pepsine dont on veut connaître le titre et une pepsine à titre connu.

Sur le filtrat des deux digestés, on opère l'essai azotique, et s'il n'existe pas de différences entre le nombre de gouttes d'acide azotique ajoutées dans ces deux essais pour obtenir un louche appréciable, la pepsine a été étudiée à un titre très voisin de celui de la pepsine type.

#### B) Fibrine sèche

La fibrine essorée ne se conserve pas longtemps, même à la glacière, car c'est un excellent milieu de culture, et de plus elle possède ses propres diastases. C'est ce qui explique que l'on ne peut pas, sans précautions, la dessécher à la température de 38°, car elle se transforme rapidement en une sorte de gelée transparente à odeur infecte.

Pour sécher la fibrine, il faut que le lavage à l'eau froide soit parfait ; on doit donc l'exprimer très énergiquement jusqu'à ce qu'elle devienne blanche. On l'étale alors en couche mince sur un tamis, et on la met sécher à la température de 40-45° dans une étuve ayant une bonne circulation d'air. La dessiccation doit être rapide sans dépasser 50°.

La fibrine séchée doit être pulvérisée et essayée à l'acide chlorhydrique dilué ; elle doit se prendre instantanément en gelée.

Pour notre part, quelques essais comparatifs nous ont montré que la fibrine sèche correspond à peu près au 1/3 de fibrine fraîche essorée soigneusement à travers un linge.

Pour cela, nous avons pesé à plusieurs reprises 10 gr de fibrine fraîche, puis nous l'avons desséchée et pulvérisée comme il est dit plus haut.

Nous avons obtenu sur 10 essais, un rendement de 10 gr. de fibrine fraîche en fibrine sèche variant entre 24.8 et 25.1 %.

Ces résultats, confirment à peu près ceux de M. Macquaire [25] qui s'était occupé de cette question.

Nous signalerons que certains expérimentateurs dessèchent dans le vide des caillots de bœuf et de cheval, bien débarrassés de globules rouges par lavage prolongé à l'eau courante.

Mais la fibrine de cheval se solubilise petit-à-petit dans l'eau pure ; l'eau salée peut même la solubiliser complètement ; aussi, si l'on veut employer cette fibrine, faut-il la débarrasser rapidement de ses impuretés au moyen de lavage à l'eau froide.

La fibrine de cheval desséchée à une température voisine de 40° se solubilise facilement dans une solution acide, alors que cette même fibrine desséchée à froid ou à 100° ne se solubilise pas.

Ce phénomène d'autolyse a reçu plusieurs explications : ce sont des traces de trypsine pancréatique d'après certains auteurs [17], des diastases, des leucocytes d'après les autres, qui provoquent ces débuts de digestion [34]

On obtient de la fibrine pure, très peu soluble dans des solutions salées, en partant de plasmas centrifugés et filtrés [34]. Il

semble cependant que l'on ne peut enlever complètement les traces de trypsine qui imprègnent la fibrine.

La dessiccation à 40° n'a qu'une influence minime sur la fibrine de porc; aussi nous avons opéré avec cette fibrine comme l'indique le Codex français.

### C) Albumine d'œuf coagulée

Le terme albumine vient du mot latin « Albumen » qui veut dire blanc d'œuf. En réalité, le blanc d'œuf est un albuminate; purifié par la dialyse, il fournit l'albumine dite pure à laquelle certains auteurs attribuent la formule suivante :  $C^{240} H^{392} N^{65} O^{75} S^3$ .

Cette albumine est coagulée par tous les réactifs généraux des albuminoïdes : l'acide nitrique (sensibilité 1/20.000), le chlorure de sodium concentré et acétifié, le tanin et les réactifs alcaloïdiques (sensibilité 1/200.000) au moins), la chaleur.

A) *Coagulation de l'Albumine.* — Dans les pharmacopées étrangères on emploie la chaleur comme agent de coagulation; celle-ci est faite dans la coquille elle-même et consiste à tremper l'œuf dans l'eau bouillante; on retire l'œuf au bout d'un temps déterminé et on le refroidit sous l'eau courante.

Le temps de coagulation est fixé comme nous l'avons vu, à :

5 minutes dans la pharmacopée suisse,

8 minutes dans la pharmacopée japonaise,

10 minutes dans la pharmacopée belge,

15 minutes dans la pharmacopée anglaise.

Les résultats figurant dans le tableau suivant montrent qu'il est important de coaguler l'albumine d'œuf pendant le temps rigoureusement fixé par chaque pharmacopée, car, si dans le procédé belge par exemple, au lieu de coaguler l'albumine d'œuf pendant 10 minutes, ce temps est porté à 15 minutes, on voit que les résultats de la digestion pepsine sont moins bons pour devenir tout-à-fait mauvais après une coagulation de 30 à 35 minutes, même après trois heures de digestion.

# ESSAI DU CODEX BELGE

Prise d'essai : 0 gr. 10 — Pep. Franç. T 250

| MINUTES<br>DE CUISSON | Résultat au bout d'une heure |                      |                      | Résultat au bout de trois heures |                      |                      |
|-----------------------|------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------|
|                       | 1 <sup>er</sup> Essai        | 2 <sup>e</sup> Essai | 3 <sup>e</sup> Essai | 1 <sup>er</sup> Essai            | 2 <sup>e</sup> Essai | 3 <sup>e</sup> Essai |
| 10'                   | ++                           | ++                   | ++                   | ++                               | ++                   | ++                   |
| 15'                   | +                            | +                    | +                    | ++                               | +                    | +                    |
| 20'                   | —                            | ±                    | ±                    | +                                | ±                    | ±                    |
| 30'                   | —                            | —                    | —                    | ±                                | ±                    | —                    |
| 35'                   | —                            | —                    | —                    | —                                | —                    | —                    |

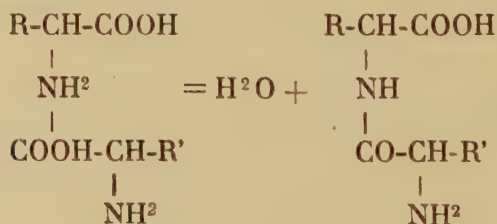
ABRÉVIATIONS : — Mauvais (alb. non attaquée) ; + — Médiocre (alb. incomp. dis.) ; + Passable (alb. presque complètement dissoute) ; ++ Bon (albumine dissoute).

On sait que l'albumine cuite est attaquée plus lentement par la pepsine que l'albumine crue.

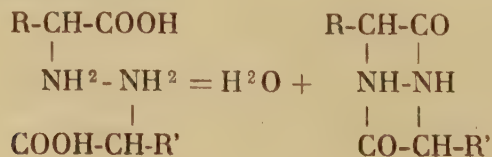
M. Blanchetière [5] a démontré que l'hydrolyse de l'albumine cuite est plus difficile à réaliser par suite de la présence de diacipipérazines. Ce sont des corps du groupe cyclique, résultant de la déshydratation des acides aminés.

Ainsi, les acides aminés, peuvent donner naissance à deux sortes d'anhydrides :

## LES PEPTIDES :



## LES DIACIPIPERAZINES :



Il est probable que plus l'altération de l'albumine par la chaleur est profonde, plus on a de chances de rencontrer des quantités importantes de ces diacipipérazines qui ralentissent la digestion.

B) *Tamisation*. — L'albumine ainsi préparée doit être tamisée.

Certaines pharmacopées, comme la pharmacopée allemande, ne spécifient pas quelle est la grosseur du tamis à employer pour cette opération. Nous verrons page 48, à propos de l'essai de cette pharmacopée, que plus la matière albuminoïde est divisée, meilleure est la digestion; en effet, plus les particules sont petites, plus la surface de contact est grande.

C) *Désagrégation*. — Les fragments d'albumine tendent à s'agréger; aussi, pour avoir un milieu homogène, on devrait séparer aussi soigneusement que possible, ces fragments.

Certaines pharmacopées (anglaise, américaine) prescrivent cette désagrégation, soit au mortier, soit avec un agitateur.

---

## CHAPITRE V

---

### **Comparaison entre eux des divers essais officiels exposés plus haut**

---

Nous allons comparer entre eux ces divers procédés :

1°. — Dans ces essais les matières passives sont d'origine différente. Quatre essais portent sur l'albumine d'œuf, et un seul sur la fibrine de porc.

Dans les quatre essais utilisant l'albumine d'œuf la durée de coagulation est différente ; elle est de :

10 minutes dans les essais belge et allemand, 15 minutes dans les essais anglais et américain.

La tamisation de l'albumine est différente dans tous ces procédés.

L'essai allemand ne parle pas de cette tamisation.

2°. — Les suspensions de ces matières passives sont toutes différentes. Dans l'essai français, 10 grammes de fibrine fraîche ou 2 gr. 50 de fibrine sèche sont en suspension dans 58 cm<sup>3</sup> 5 d'eau chlorhydrique.

Dans l'essai belge, 10 grammes d'albumine sont en suspension dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau chlorhydrique.

Dans l'essai anglais, 12 gr. 50 d'albumine sont en suspension dans 120 cm<sup>3</sup> d'eau chlorhydrique.

Dans l'essai américain, 10 grammes d'albumine sont en suspension dans 50 cm<sup>3</sup> d'eau chlorhydrique.

Dans l'essai allemand, 10 grammes d'albumine sont en suspension dans 10 cm<sup>3</sup> d'eau chlorhydrique.

3° Dans ces procédés ni la durée ni la température de digestion n'est la même :

Le temps de digestion de l'essai français est de 6 heures à 50°.

Celui de l'essai belge est de 1 heure à 40°.

Celui de l'essai anglais est de 2 heures à 40-44°.

Celui de l'essai américain est de 2 h. 30' à 52°

Celui de l'essai allemand est de 3 heures à 45°.

4° Les milieux acides sont tous différents ; ils sont constitués :

Dans l'essai français, par l'acide chlorhydrique officinal dilué.

Dans la pharmacopée belge et dans la pharmacopée anglaise par l'acide chlorhydrique pur.

Dans la pharmacopée des Etats-Unis par une solution normale d'acide chlorhydrique.

Dans la pharmacopée allemande par l'acide chlorhydrique pur.

(Il est à remarquer que les acides chlorhydriques officinaux purs de ces pharmacopées ont des densités différentes, ce qui explique que les teneurs en HCl gazeux de sont pas proportionnelles à la concentration en acide chlorhydrique officinal pour 100).

Ces acidités sont :

Dans l'essai français, de 1 gr. 50 d'acide chlorhydrique dilué pour 60 cm<sup>3</sup> de solution, soit 0,25 % d'acide chlorhydrique pur D : 1,171, soit en HCl gazeux 0,084 %.

Pour l'essai belge 0,25 % d'acide chlorhydrique officinal D : 1,186, soit 0,091 % HCl gazeux.

L'essai anglais de 0,50 % d'acide chlorhydrique officinal D : 1,077, soit 0,099 % HCl gazeux.

L'essai américain U. S. de 0,30 % d'acide chlorhydrique officinal D : 1,15, soit 0,088 % HCl gazeux.

L'essai allemand de 0,50 % d'acide chlorhydrique officinal D : 1,12, soit 0,119 % HCl gazeux.

Nous voyons qu'on utilise la plus forte concentration en HCl dans les essais anglais et allemand, que l'essai belge vient ensuite, enfin les essais américain et français.

5° L'état dans lequel la pepsine est ajoutée à la suspension d'albumine diffère suivant les procédés.

Dans l'essai français, on ajoute la pepsine brute à la suspension d'albumine.

Dans l'essai belge, on dissout la pepsine dans l'eau acidulée avant d'ajouter l'albumine.

Dans l'essai anglais, on triture la pepsine avec du chlorure de sodium et on laisse en contact 6 heures avec l'eau chlorhydrique chlorurée.

Dans l'essai américain, on fait une dilution extemporanée de pepsine dans l'eau chlorhydrique.

Dans l'essai allemand, on ajoute la pepsine à la suspension d'albumine portée à 45°.

6° Les résultats d'observation ne sont pas les mêmes et n'ont pas le même degré de précision.

Dans l'essai français, on cherche à déterminer par précipitation azotique, la transformation presque complète de l'albumine en albumose en dépassant la phase syntonine.

Dans l'essai anglais, on ne constate que la liquéfaction complète de l'albumine.

Dans l'essai belge, de même que dans celui de l'essai allemand on est moins rigoureux, on admet la persistance de quelques petits flocons.

Dans l'essai américain, on admet un dépôt d'albumine non liquéfiée.

Nous avons résumé dans le tableau suivant les conditions principales prescrites pour les essais des pepsines suivant les différentes pharmacopées.

---

| PHARMACOPÉE         | MATIÈRES PASSIVES |           | SOLUTION ACIDE               |                          |                       |                  | DIGESTION        |                  | DÉTERMINATION<br>DE LA FIN DE L'ESSAI                                         | Titre<br>Standard |
|---------------------|-------------------|-----------|------------------------------|--------------------------|-----------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
|                     | NATURE            | Poids     | Volume<br>en cm <sup>3</sup> | Ac. chlor<br>off. p' 100 | Densité<br>da l'acide | H Cl<br>Gazaux % | Tempé-<br>rature | DURÉE            |                                                                               |                   |
| Française 1908..    | Fib. fraîche.     | 10 gr.    | 60                           | 0.25                     | 1.171                 | 0.084            | 50°              | 6 h.             | Digestion et disparition de la<br>précipitation azotique.                     | 100               |
| —                   | Fib. sèche ..     | 2 gr. 50  |                              |                          |                       |                  |                  |                  |                                                                               |                   |
| Allemande 1926 .    | Alb. coag. 10'    | 10 gr.    | 100                          | 0.50                     | 1.12                  | 0.119            | 45°              | 3 h.             | Dissolution.                                                                  | 100               |
| U. S. 1916. ....    | Alb. coag. 15'    | 10 gr.    | 50                           | 0.30                     | 1.15                  | 0.088            | 52°              | 2 h. 1/2         | Dissolution incomplète.                                                       | 3.000             |
| Anglaise 1926. .... | Alb. coag. 15'    | 12 gr. 50 | 120                          | 0.64                     | 1.077                 | 0.099            | 40-44°           | 6 h.             | Dissolution presque complète.                                                 | 2.500             |
| Belge 1906 .....    | Alb. coag. 10'    | 10 gr.    | 100                          | 0.25                     | 1.186                 | 0.091            | 40°              | 1 h.             | Dissolution presque complète.                                                 | 100               |
| Espagnole 1915..    | Fib. sèche ..     | 10 gr.    | 50                           | 1 »                      | 1.18                  | 0.353            | 50°              | 6 h.             | Dissolution complète.                                                         | 400               |
| Hollandaise 1926.   | Alb. coag. 5'.    | 15 gr.    | 150                          | 0.14                     | 1.127                 | 0.033            | 45°              | 2 h. 1/2         | Dissolution complète.                                                         | 150               |
| Hongroise 1909 .    | Alb. coag. 5'.    | 10 gr.    | 95                           | 0.25                     | 1.125                 | 0.061            | 40°              | 1 à 2 h.         | Dissolution complète.                                                         | 100               |
| Italienne 1920 ...  | Alb. coag. 10'    | 10 gr.    | 100                          | 0.25                     | 1.18                  | 0.088            | 38-40°           | 1 à 2 h.         | Dissolution presque complète.<br>Disparition de la précipitation azotique.    | 100               |
| Japonaise 1922 ..   | Alb. coag. 8'     | 10 gr.    | 100                          | 0.50                     | 1.152                 | 0.149            | 50°              | 2 h.             | Dissolution complète.                                                         | 100               |
| Norvégienne 1913    | Alb. coag. 10'    | 10 gr.    | 100                          | 0.50                     | 1.126                 | 0.124            | 50°              | 2 h.             | Dissolution presque complète.                                                 | 100               |
| Roumaine 1926 ..    | Alb. coag. ...    | 10 gr.    | 100                          | 0.20                     | 1.126<br>1.128        | 0.049            | 40-45°           | 2 à 3 h.<br>5 h. | Dissolution.<br>Disparition de la précipitation azotique.                     | 100               |
| Russe 1910. ....    | Alb. coag. 10'    | 10 gr.    | 100                          | 0.25                     | 1.040                 | 0.020            | 40°              | 4 h.             | Dissolution complète.                                                         | 100               |
| Suisse 1907. ....   | Alb. coag. 5'.    | 10 gr.    | 100                          | 0.20                     | 1.126                 | 0.049            | 40°              | 1 à 2 h.<br>5 h. | Dissolution presque complète.<br>Digest. compl. Dispar. de la précipit. azot. | 100               |

À côté de leurs divergences, tous ces essais possèdent les caractères communs suivants :

1° Chaque méthode utilise une quantité de pepsine faible par rapport à la substance albuminoïde à transformer.

2° Elle peut faire varier le poids du ferment à utiliser (voir par exemple l'essai des Etats-Unis), tout en maintenant constants les facteurs qui influent sur la vitesse de la transformation, c'est-à-dire la température, la concentration, le P. H., etc..

3° Chaque méthode impose une limite à la transformation de la substance albuminoïde et à la durée de cette transformation.

On dit que l'activité d'un échantillon de pepsine par rapport à un type pris pour unité, dont on utilise un poids,  $p$ , est par exemple de 2 (OU DE  $n$  EN GÉNÉRAL) si, pour obtenir, dans des conditions bien déterminées, le même terme de transformation qu'avec le type, le poids employé est de  $1/2$  (OU DE  $1/n$  EN GÉNÉRAL) de celui du type.

La pepsine normale ou " STANDARD " de chaque pharmacopée est la pepsine dont l'activité est telle, qu'en utilisant le poids déterminé par la méthode choisie, on obtienne au moins le résultat demandé et seulement celui-là.

LA PEPSINE NORMALE OU " STANDARD " SERA LA PEPSINE D'ACTIVITÉ MINIMA SATISFAISANT A L'ESSAI.

---

## CHAPITRE VI

---

### **Détermination des titres de diverses pepsines suivant les pharmacopées française et étrangères**

---

Venant de signaler toutes les différences des diverses méthodes d'essai, nous nous sommes proposés de rechercher les concordances entre les titres de pepsines normales ou " Standard " que ces méthodes déterminent.

#### **A) Titre des Pepsines Françaises suivant les Pharmacopées Étrangères**

Pour établir l'équivalence du titre des pepsines normales de ces pharmacopées au titre français, nous avons préparé des pepsines françaises à titre croissant.

Pour exécuter toutes nos pesées avec la même précision, nous avons préféré prendre pour chaque essai un même poids de chacune de ces pepsines au lieu de prendre des poids différents d'une même pepsine à titre connu.

#### **I. — Préparation d'une série de pepsines à titres français gradués et vérifiés.**

1<sup>o</sup> PRÉPARATION. — Nous sommes partis d'une pepsine française à titre 400\*. Après l'avoir rapidement pulvérisée, nous

---

\* Cette pepsine provient des Usines du Pecq.

Nous avons également employé dans nos essais une pepsine titre 1.000 provenant des Etablissements Byla.

l'avons mélangée intimement au mortier avec une poudre composée d'une partie de lactose et d'une partie de gomme arabique desséchée soigneusement à l'étuve à 40° (le mélange lactose et gomme assurant une meilleure conservation de l'échantillon préparé).

Ainsi, pour préparer une pepsine à titre 50, nous avons pesé 1 gr. 25 de pepsine à titre 400 et 8 gr. 75 de poudre composée.

Pour préparer une pepsine à titre 100, nous avons pesé 2 gr. 50 de pepsine et 7 gr. 50 de poudre composée, etc...

Les mélanges ont été opérés dans un mortier en verre très sec.

Les pesées ont été exécutées au 1/2 milligramme près. §

Les pepsines, durant ces pesées, n'ont séjourné dans l'atmosphère du laboratoire que le temps de les transporter sur le plateau de la balance. Elles ont été ensuite introduites dans des tubes en verres séchés et bouchés au liège paraffiné.

2° VÉRIFICATION. — Nous avons soumis à l'essai du Codex français les pepsines que nous avons obtenues suivant le procédé de dilution indiqué ci-dessus. Nous allons indiquer avec quelques détails la façon dont nous avons procédé.

La matière passive étant de 2 gr. 50 de fibrine sèche dans tous nos essais, nous avons utilisé la fibrine de porc desséchée à basse température suivant le procédé indiqué plus haut, car nous avons vu qu'elle offrait plus de garantie quant à la constance de ses pesées.

Au point de vue de l'acidité, nous avons, pour plus de précision, fait une solution d'acide chlorhydrique dilué et nous avons vérifié qu'elle correspondait au 1/10 de l'acide chlorhydrique officinal pur.

Nous avons employé pour chaque essai 1 gr. 50 de cet acide, soit 30 gouttes à 15°. (Ces gouttes ont été comptées à l'aide d'un compte-goutte normal).

Nous avons opéré pour chaque essai, à la température constante de 50°; pour cela, nous avons exécuté nos digestions dans des flacons d'Erlenmeyer en verre mince de 70 cm<sup>3</sup> de capacité et nous les avons placés dans un B. M. à régulateur bi-métallique; le couvercle du B. M. a été percé de trous et les flacons bouchés

avec du coton non hydrophile, pour permettre, au moyen d'une baguette de verre, d'agiter le milieu et d'y placer un thermomètre sans être obligé de soustraire les flacons à la température du B. M.

Ainsi, la température de chaque fiole ne variait pas d'un degré pendant toute la durée de la digestion.

Enfin, l'ordre dans lequel les éléments de l'essai ont été ajoutés a été constant.

D'abord l'eau distillée, ensuite l'acide chlorhydrique, puis la fibrine. Après agitation, pour empêcher les grumeaux de se former et chasser les bulles d'air, nous avons mis les flacons au B. M. Lorsque la température de 50° a été atteinte, et à ce moment là seulement, nous avons ajouté la pepsine.

3° TOUCHE AZOTIQUE. — Au bout de six heures exactement, nous avons filtré les digestés après refroidissement, jusqu'à limpidité parfaite. Nous avons opéré sur 10 cm<sup>3</sup> de filtrat dans des tubes en verre neutre construits par la maison Leune. Ces tubes avaient 15 cent. de haut sur 12 <sup>m</sup>/<sub>m</sub> de diamètre et étaient exactement calibrés.

Nous avons ajouté à ce filtrat de l'acide azotique officinal vérifié pur (20 gouttes normales en 3 minutes). Après addition de chaque goutte d'acide, nous avons retourné les tubes obturés avec un bouchon de caoutchouc.

J. Disdier [10] a montré, en effet, que la durée plus ou moins longue de l'épreuve azotique influait sur les résultats. Il se produit en outre un échauffement du milieu après addition de chaque goutte d'acide azotique, pouvant faire monter la température au-dessus de 20°; or, pour des températures comprises entre 17 et 20°, plus la température est haute, plus il faut de gouttes d'acide azotique pour obtenir un louche avec la même digesté. Nous avons donc préféré opérer la lecture du résultat à la température moyenne de 19°, en maintenant cette température par refroidissement si besoin était, et en la vérifiant au moyen d'un thermomètre.

Nous ne nous sommes pas contentés de rechercher le trouble qui se produit avec 20 gouttes d'acide azotique, mais aussi avec 10 et 30 gouttes pour mieux délimiter le commencement et la fin de la réaction. En outre, nous avons noté dans certains cas, le nombre de gouttes minimum produisant un louche, faisant la

distinction entre une opalescence, un louche et un trouble.

Enfin, nous avons entrepris sous une autre forme, la recherche des matières albuminoïdes.

Dans de petits tubes à hémolyse de 5 cent. de haut sur 10 <sup>m</sup>/<sub>m</sub> de diamètre exactement calibrés, nous avons versé 1 cm<sup>3</sup> d'acide azotique fumant, puis, avec une pipette très fine, très lentement et sans mélanger, 1 cm<sup>3</sup> de filtrat sur la paroi du tube, ce dernier étant maintenu vertical. Nous avons observé comparativement les anneaux obtenus ainsi dans les différents digestés. Nous avons observé l'anneau entre 1 min. 30 sec. et 2 min., à la température de 15 à 20°, en ne tenant pas compte des modifications du milieu (coloration xanthoprotéique par exemple) qui se produisent par la suite. Avec des digestats divers on obtient soit un anneau plus ou moins opaque dont la hauteur est plus ou moins grande, soit un voile bleu et léger à la surface de l'acide azotique. Si l'on pousse la digestion au-delà du terme prescrit par le Codex français, on n'observe plus rien à la zone de séparation des deux liquides.

Lorsque l'on n'a plus qu'une espèce de voile bleu à la surface de l'acide azotique, la transformation de l'albumine est suffisante, car à ce moment la touche azotique du Codex est satisfaisante, elle aussi.

Les pepsines que nous avons soumises à l'essai du Codex français, titraient de I : 50 à I : 400, de 10 en 10.

Nos prises d'essai ont été faites de telle façon que les pepsines correspondent à leur titre. Ainsi, nous avons pesé 0 gr. 10 de pepsine au titre 100, 0 gr. 20 de pepsine au titre 50, doses capables de digérer 2 gr. 50 de fibrine sèche. Ces pesées ont été faites au milligramme près, et pour chaque titre nous avons fait deux prises d'essai de poids voisin.

Dans le tableau suivant, nous voyons que les PEPSINES TITRANT de 50 à 150 CORRESPONDENT BIEN AUX EXIGENCES DU CODEX

Nous avons de même obtenu des résultats SATISFAISANTS avec les PEPSINES A TITRE SUPÉRIEUR A 150.

Dans le tableau résumant ces essais, nous avons réservé une colonne pour indiquer le nombre de gouttes minima produisant un louche dans 10 cm<sup>3</sup> de filtrat.

De ces essais, on conclut qu'il faut environ 32 gouttes pour obtenir un louche dans une bonne digestion et que la variation d'un milligramme dans la prise d'essai des pepsines commence déjà à être appréciable d'après le nombre de gouttes que l'on doit ajouter aux 10 cm<sup>3</sup> de filtrat pour arriver à produire un louche.

| TITRE<br>des Pepsines<br>obtenues<br>par dilution<br>de la P <sup>ep</sup> . Fr.<br>à 400 | PRISES D'ESSAI         |                   | TOUCHE AZOTIQUE<br>Nombre de gouttes d'acide azotique |    |                | NOMBRE<br>minimum<br>de gouttes<br>pour produire<br>un louche |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------|----|----------------|---------------------------------------------------------------|
|                                                                                           | Chiffres<br>théoriques | Pesées<br>réelles | X                                                     | XX | XXX            |                                                               |
| 50                                                                                        | 0.2000                 | 0.200             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
|                                                                                           |                        | 0.210             | O                                                     | O  | O              | XXXIII                                                        |
| 60                                                                                        | 0.1666                 | 0.1666            | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
|                                                                                           |                        | 0.167             | O                                                     | O  | O              | XXXV                                                          |
| 70                                                                                        | 0.1428                 | 0.142             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
|                                                                                           |                        | 0.143             | O                                                     | O  | O              | XXXV                                                          |
| 80                                                                                        | 0.1250                 | 0.124             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
|                                                                                           |                        | 0.125             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
| 90                                                                                        | 0.1111                 | 0.111             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
|                                                                                           |                        | 0.112             | O                                                     | O  | O              | XXXVI                                                         |
| 100                                                                                       | 0.1000                 | 0.100             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
|                                                                                           |                        | 0.105             | O                                                     | O  | O              | XXXV                                                          |
| 110                                                                                       | 0.0999                 | 0.099             | O                                                     | O  | O <sup>p</sup> | XXXI                                                          |
|                                                                                           |                        | 0.100             | O                                                     | O  | O              | XXXVI                                                         |
| 120                                                                                       | 0.0833                 | 0.083             | O                                                     | O  | O <sup>p</sup> | XXXI                                                          |
|                                                                                           |                        | 0.084             | O                                                     | O  | O              | XXXII                                                         |
| 130                                                                                       | 0.0769                 | 0.076             | O                                                     | O  | O <sup>p</sup> | XXXI                                                          |
|                                                                                           |                        | 0.077             | O                                                     | O  | O              | XXXV                                                          |
| 140                                                                                       | 0.0714                 | 0.071             | O                                                     | O  | O <sup>p</sup> | XXXI                                                          |
|                                                                                           |                        | 0.072             | O                                                     | O  | O              | XXXV                                                          |
| 150                                                                                       | 0.0666                 | 0.066             | O                                                     | O  | O              | XXXI                                                          |
|                                                                                           |                        | 0.067             | O                                                     | O  | O              | XXXV                                                          |

ABRÉVIATIONS : Op. (opalescence) ; O (filtrat reste clair).

4<sup>e</sup> MATIÈRE PASSIVE. — Nous avons vérifié la fibrine sèche que nous avons préparé nous-mêmes suivant les précautions d'usage et en assez grande quantité pour pouvoir exécuter tous nos essais avec la même matière passive.

Nous avons fait des essais comparatifs de notre fibrine avec une fibrine commerciale ordinaire. Pour ces essais, nous avons employé des pepsines commerciales ordinaires, dont le titre garanti par la maison qui nous les a procurées est indiqué dans le tableau suivant.

Comme l'essai du Codex correspond à une pepsine au titre I : 100, nous avons effectué nos pesées correspondantes aux titres de nos pepsines et à des titres légèrement inférieurs.

On s'aperçoit que les essais au moyen de la fibrine commerciale ne sont pas assez rigoureux (voir tableau suivant).

Il faut en effet de xxxv à xl gouttes d'acide azotique pour arriver à produire un trouble avec la fibrine commerciale ordinaire et de xxx à xxxii gouttes pour la fibrine préparée au laboratoire.

En employant la fibrine préparée au laboratoire, on peut mettre en évidence une différence de prise d'essai de 10 % environ.

La sensibilité du procédé d'essai avec cette matière passive nous a paru satisfaisante.

---

FIBRINE COMMERCIALE

(Essai du Codex Français)

| TITRES<br>DES<br>PEPSINES | PRISES D'ESSAIS<br>DES PEPSINES |                   | TOUCHE AZOTIQUE          |         |         |               | ANNEAU<br>AZOTIQUE |
|---------------------------|---------------------------------|-------------------|--------------------------|---------|---------|---------------|--------------------|
|                           | Chiffres<br>théoriques          | Pesées<br>réelles | GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE |         |         |               |                    |
|                           |                                 |                   | x                        | xx      | xxx     | Minimum       |                    |
| 400                       | 0.025                           | 0.024<br>0.025    | O<br>O                   | Op<br>O | L<br>Op | xxxii<br>xxxv | Vb<br>Vb           |
| 300                       | 0.0333                          | 0.033<br>0.034    | O<br>O                   | O<br>O  | L<br>Op | xxxv<br>xl    | Vb<br>Vb           |
| 250                       | 0.040                           | 0.035<br>0.040    | O<br>O                   | Op<br>O | Tr<br>L | xxxi<br>xxxv  | A<br>Vb            |
| 100                       | 0.10                            | 0.090<br>0.100    | O<br>O                   | Op<br>O | L<br>Op | xxxii<br>xxxv | Vb<br>Vb           |

FIBRINE PRÉPARÉE AU LABORATOIRE

(Essai du Codex Français)

| PEPSINES<br><br>titre<br><br>garanti | PRISES D'ESSAIS<br>DES PEPSINES |                   | TOUCHE AZOTIQUE          |    |     |         | ANNEAU<br>AZOTIQUE |
|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------|--------------------------|----|-----|---------|--------------------|
|                                      | Chiffres<br>théoriques          | Pesées<br>réelles | GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE |    |     |         |                    |
|                                      |                                 |                   | x                        | xx | xxx | Minimum |                    |
| 400                                  | 0.025                           | 0.024             | O                        | O  | O   | xxx     | O                  |
|                                      |                                 | 0.025             | O                        | O  | O   | xxxii   | O                  |
| 300                                  | 0.0333                          | 0.033             | O                        | O  | O   | xxv     | O                  |
|                                      |                                 | 0.034             | O                        | O  | O   | xxxii   | O                  |
| 250                                  | 0.40                            | 0.035             | O                        | Op | L   | xxi     | Vb                 |
|                                      |                                 | 0.040             | O                        | O  | O   | xxx     | O                  |
| 100                                  | 0.100                           | 0.090             | O                        | O  | O   | xxx     | O                  |
|                                      |                                 | 0.100             | O                        | O  | O   | xxxii   | O                  |

ABRÉVIATIONS : Op., opalescence ; L., louche ; Tr., trouble ; Vb., voile bleu ; A., anneau ; O., filtrat reste clair.

## II. — Essais des pepsines françaises suivant le pharmacopée belge

Nous avons soumis les mêmes pepsines françaises, obtenues et vérifiées comme précédemment et titrant de 50 à 400 à l'essai de la pharmacopée belge.

Nos résultats sont inscrits dans le tableau suivant

Dans un premier essai approché, nous nous apercevons que la liquéfaction de l'albumine paraît satisfaisante avec une pepsine ayant un titre compris entre I : 100 et I : 150 français.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>(Usines du Pecq)<br>Page 35 |                 | TROIS ESSAIS |    |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------|----|-----|
|                                                                                                   |                 | I            | II | III |
| Pepsine L. P.                                                                                     | 50. . . . .     | —            | —  | —   |
| —                                                                                                 | 100. . . . .    | +            | +  | +   |
| —                                                                                                 | 150. . . . .    | +            | +  | +   |
| —                                                                                                 | 200. . . . .    | +            | +  | ++  |
| —                                                                                                 | 225. . . . .    | +            | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 250. . . . .    | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 300. . . . .    | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 350. . . . .    | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 400. . . . .    | ++           | ++ | ++  |
| Pep. Byla                                                                                         | 1.000 . . . . . | ++           | ++ | ++  |

ABRÉVIATIONS : — Mauvais (alb. non attaquée) ; + — Médiocre (alb. incomp. dis.) ; + Bon (alb. presque complètement dissoute) ; ++ Très bon (albumine dissoute).

Dans une deuxième série d'essais exécutés avec des pepsines à titre croissant de 10 en 10, nous voyons que, dans la moyenne des résultats une pepsine à titre 140 satisfait à l'essai et que les titres supérieurs satisfont largement.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>(Usines du Pecq)<br>Page 35 | TROIS ESSAIS |    |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|----|-----|
|                                                                                                   | I            | II | III |
|                                                                                                   |              |    |     |
| Pepsine L. P. 100 . . . . .                                                                       | +            | +  | +   |
| — 110 . . . . .                                                                                   | +            | +  | +   |
| — 120 . . . . .                                                                                   | +            | +  | +   |
| — 130 . . . . .                                                                                   | +            | +  | +   |
| — 140 . . . . .                                                                                   | +            | +  | +   |
| — 150 . . . . .                                                                                   | +            | +  | +   |

ABRÉVIATIONS : + — Médiocre (alb. incomp. dis.); + Bon (alb, presque complètement dissoute).

0 gr. 10 d'une pepsine au titre I : 140 liquifient 10 grammes d'albumine d'œuf tamisée et désagrégée dans les conditions du Codex belge.

0 gr. 10 de pepsine française au titre I : 100 digérant 10 grammes de fibrine fraîche dans le procédé français, nous en concluons, qu'une pepsine titrant I : 140 français satisfait à l'essai du Codex belge. Le COEFFICIENT DE TRANSFORMATION D'UN TITRE BELGE EN TITRE FRANÇAIS SERA DE 1,4 ET CELUI D'UN TITRE FRANÇAIS EN TITRE BELGE SERA DE 0,7.

Ainsi : LE TITRE 100 BELGE ÉQUIVAUT AU TITRE 140 FRANÇAIS.

LE TITRE 100 FRANÇAIS ÉQUIVAUT AU TITRE 70 BELGE

III. — *Essai des pepsines françaises suivant la pharmacopée anglaise.*

Nous avons soumis les mêmes pepsines (page 35) titrant de 50 à 400 à l'essai officiel anglais.

Nous voyons, dans un premier tableau, qu'une pepsine comprise entre 150 et 200 satisfait à l'essai de la pharmacopée anglaise

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>(Usines du Pecq)<br>Page 35 |               | TROIS ESSAIS |    |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------|----|-----|
|                                                                                                   |               | I            | II | III |
|                                                                                                   |               |              |    |     |
| Pepsine L. P.                                                                                     | 50 . . . . .  | —            | —  | —   |
| —                                                                                                 | 100 . . . . . | +            | +  | +   |
| —                                                                                                 | 150 . . . . . | +            | +  | +   |
| —                                                                                                 | 200 . . . . . | ++           | ++ | +   |
| —                                                                                                 | 225 . . . . . | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 250 . . . . . | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 300 . . . . . | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 350 . . . . . | ++           | ++ | ++  |
| —                                                                                                 | 400 . . . . . | ++           | ++ | ++  |

ABRÉVIATIONS : — Mauvais (alb. non attaquée; + — Médiocre (alb. incomp. dis); + Bon (alb. presque complètement dissoute); ++ Très bon (albumine dissoute).

Dans un deuxième tableau, c'est la pepsine au titre 170 français qui est la première à répondre aux exigences de l'essai anglais.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>(Usines du Pecq)<br>Page 35 |  | TROIS ESSAIS |    |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------|----|-----|
|                                                                                                   |  | I            | II | III |
|                                                                                                   |  |              |    |     |
| Pepsine L. P. 150 . . . . .                                                                       |  | +            | +  | +   |
| — 160 . . . . .                                                                                   |  | +            | +  | +   |
| — 170 . . . . .                                                                                   |  | +            | +  | +   |
| — 180 . . . . .                                                                                   |  | +            | +  | +   |
| — 190 . . . . .                                                                                   |  | +            | +  | +   |
| — 260 . . . . .                                                                                   |  | +            | +  | +   |

ABRÉVIATIONS : + — Médiocre (alb. incomp. dissoute); + (Bon alb. presque complètement dissoute); + + Très bon (albumine dissoute).

20 cm<sup>3</sup> d'une solution de pepsine 170 français à 0 gr. 25 %<sub>0</sub> contiennent 0 gr. 005 de cette pepsine. Ces 0 gr. 005 dissolvent 12 gr. 50, soit 2.500 fois leur poids d'albumine.

Nous en concluons, qu'une pepsine titrant 170 français équivalent à une pepsine titrant 2.500 anglais.

LE COEFFICIENT DE TRANSFORMATION DU TITRE ANGLAIS EN TITRE FRANÇAIS EST DE :

$$2.500 \times X = 170 \text{ d'où } X = \frac{170}{2.500} = 0.068$$

ET LE COEFFICIENT DE TRANSFORMATION DU TITRE FRANÇAIS EN TITRE ANGLAIS EST DE :

$$\text{en effet } 170 \times X = 2.500 \text{ d'où } X = \frac{2.500}{170} = 14,7$$

En résumé : UNE PEPSINE AU TITRE 100 FRANÇAIS, TITRE 1.470 ANGLAIS,  
UNE PEPSINE AU TITRE 2.500 ANGLAIS, TITRE 170 FRANÇAIS.

IV. — *Essai des pepsines françaises suivant la pharmacopée des Etats-Unis*

Nous avons soumis des pepsines françaises ayant un titre français compris entre 150 et 400 à l'essai officiel de la pharmacopée américaine. Nous nous sommes d'abord aperçus que la pepsine au titre 300 français satisfaisait à l'essai de la pharmacopée américaine.

Comme nous l'avons vu page 22, l'essai des Etats-Unis permet, non seulement d'accepter une pepsine ou de la rejeter si elle ne correspond pas au titre Standard U. S., mais aussi, de déterminer dans ce dernier cas son titre approximatif en faisant agir sur la suspension d'albumine, une quantité variable de sa solution.

Pour confirmer le résultat précédent, nous avons donc essayé de trouver la correspondance entre l'essai des Etats-Unis et l'essai français, par une voie un peu différente, en ajoutant à la suspension d'albumine un nombre croissant de cm<sup>3</sup> de solution de pepsine de titre inférieur à 300. D'après les résultats consignés dans un premier tableau, nous voyons que, pour des titres inférieurs à 300, plus nous ajoutons de solution, plus l'essai devient satisfaisant.

| 5 cm <sup>3</sup><br>de solution<br>de pepsine<br>au titre suivant | RÉSULTAT<br>DE<br>L'ESSAI | 6 cm <sup>3</sup><br>de solution<br>de pepsine<br>au titre suivant | RÉSULTAT<br>DE<br>L'ESSAI | 7 cm <sup>3</sup> 5<br>de solution<br>de pepsine<br>au titre suivant | RÉSULTAT<br>DE<br>L'ESSAI |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 150                                                                | —                         | 150                                                                | —                         | 150                                                                  | <u>+</u>                  |
| 200                                                                | —                         | 200                                                                | <u>+</u>                  | 200                                                                  | +                         |
| 250                                                                | <u>+</u>                  | 250                                                                | +                         | 250                                                                  | +                         |
| 300                                                                | +                         | 300                                                                | +                         | 300                                                                  | + +                       |
| 350                                                                | +                         | 350                                                                | + +                       | 350                                                                  | + +                       |
| 400                                                                | + +                       | 400                                                                | + +                       | 400                                                                  | + +                       |
| 1.000<br>(Pepsine Byla)                                            | + + +                     | 1.000<br>(Pepsine Byla)                                            | + + +                     | 1.000<br>(Pepsine Byla)                                              | + + +                     |

ABRÉVIATIONS : — Dépôt d'alb. de plus de 1 cent. de haut ; + — Dépôt d'alb. compris entre 1 et 2 cent. ; + Dépôt d'alb. de 1 cent. ; + + Dépôt d'alb. de moins de 1 cent. ; + + + Absence de dépôt.

Avec comme prise d'essai, 5 cm<sup>3</sup> de solution, la pepsine à 300 satisfait à l'essai U. S.; avec 6 cm<sup>3</sup> la pepsine à 250 et avec 7 cm<sup>3</sup> 5 la pepsine à 200 satisfont à l'essai de la pharmacopée des Etats-Unis.

D'après la pharmacopée des Etats-Unis, si nous divisons 15.000 par le nombre de cm<sup>3</sup> de solution de pepsine employés, nous avons les titres suivants :

$$\frac{15.000}{5} = 3.000 \quad \frac{15.000}{6} = 2.500 \quad \frac{15.000}{7,5} = 2.000$$

Les pepsines à 3.000, 2.500, 2.000 correspondent donc respectivement aux pepsines au titre français 300, 250 et 200.

Nous avons fait des essais plus approchés en prenant des pepsines ayant un titre français compris entre 260 et 340.

Avec comme prise d'essai, 5 cm<sup>3</sup>, 5 cm<sup>3</sup> 2, 5 cm<sup>3</sup> 5, d'une solution de pepsine à 0,66/1000, nous obtenons un essai satisfaisant pour les pepsines au titre français 300, 280 et 270

| 5 cm <sup>3</sup> 0<br>de solution<br>de pepsine<br>au titre suivant | RÉSULTAT<br>DE<br>L'ESSAI | 5 cm <sup>3</sup> 2<br>de solution<br>de pepsine<br>au titre suivant | RÉSULTAT<br>DE<br>L'ESSAI | 5 cm <sup>3</sup> 5<br>de solution<br>de pepsine<br>au titre suivant | RÉSULTAT<br>DE<br>L'ESSAI |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 260                                                                  | +                         | 260                                                                  | +                         | 260                                                                  | +                         |
| 270                                                                  | +                         | 270                                                                  | +                         | 270                                                                  | +                         |
| 280                                                                  | +                         | 280                                                                  | +                         | 280                                                                  | +                         |
| 290                                                                  | +                         | 290                                                                  | +                         | 290                                                                  | +                         |
| 300                                                                  | +                         | 300                                                                  | +                         | 300                                                                  | +                         |
| 310                                                                  | +                         | 310                                                                  | +                         | 310                                                                  | +                         |

ABBREVIATIONS : + — Dépôt. d'alb. compris entre 1 et 2 cent. ; + Dépôt d'albumine.

Par le simple calcul indiqué plus haut, nous nous apercevons que ces pepsines correspondent aux titres américains U. S. 3.000, 2 884 et 2.727.

LE COEFFICIENT DE TRANSFORMATION DU TITRE AMÉRICAIN U. S. EN

TITRE FRANÇAIS SERA DE 0.10 ET LE COEFFICIENT DE TRANSFORMATION  
DU TITRE FRANÇAIS EN TITRE AMÉRICAIN U. S. P. SERA DE 10.

En résumé :

UNE PEPSINE AU TITRE 100 FRANÇAIS TITRE 1.000 AMÉRICAIN.

UNE PEPSINE AU TITRE 3.000 AMÉRICAIN TITRE 300 FRANÇAIS.

V. — *Essai des pepsines françaises suivant la pharmacopée allemande*

Nous avons soumis les pepsines précédentes à l'essai officiel  
de la pharmacopée allemande.

Dans chacun de nos ballons d'essai, nous avons mesuré à la  
pipette 0,05 d'acide chlorhydrique à 1,12 de densité et 100 cm<sup>3</sup> d'eau  
distillée à la température de 50°.

Auparavant, nous avons pesé 10 grammes de blanc d'œuf  
tamisé et désagréé sommairement (tamis\* n° 10); nous avons  
porté le tout au B. M. à 45°. A ce moment, nous avons ajouté  
0 gr. 10 des pepsines obtenues par dilution et d'un titre français  
connu, tout en observant les autres conditions indiquées par l'essai.

Nous avons trouvé qu'une pepsine française titrant 50 satisfait à  
l'essai officiel allemand.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>Page 35 |               | TAMIS N° 10 - TROIS ESSAIS |    |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------|----|-----|
|                                                                               |               | I                          | II | III |
| Pepsine                                                                       | 50 . . . . .  | +                          | +  | +   |
| —                                                                             | 80 . . . . .  | +                          | +  | +   |
| —                                                                             | 100 . . . . . | +                          | +  | +   |
| —                                                                             | 150 . . . . . | +                          | +  | +   |
| —                                                                             | 200 . . . . . | +                          | +  | +   |
| —                                                                             | 250 . . . . . | +                          | +  | +   |

ABRÉVIATIONS : + Bon (albumine dissoute sauf quelques flocons);  
+ — Médiocre (dépôt d'albumine).

\* C'est-à-dire un tamis ayant 10 mailles au centimètre.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>Page 35 | TAMIS N° 10 - TROIS ESSAIS |    |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----|-----|
|                                                                               | I                          | II | III |
| Pepsine 50 . . . . .                                                          | <u>+</u>                   | +  | +   |
| — 60 . . . . .                                                                | +                          | +  | +   |
| — 70 . . . . .                                                                | +                          | +  | +   |
| — 80 . . . . .                                                                | +                          | +  | +   |

Ainsi que nous l'avons fait remarquer page 23, l'essai allemand ne spécifie pas avec quel tamis le blanc d'œuf doit être désagrégé. Aussi, nous avons effectué des essais avec des tamis de différents numéros. Chaque numéro de tamis correspond au nombre de mailles par centimètre de côté.

Si on emploie le tamis n° 12, les pepsines ayant un titre compris entre 35 et 40 français satisfont déjà à l'essai allemand.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>Page 35 | TAMIS N° 12 - TROIS ESSAIS |          |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------|-----|
|                                                                               | I                          | II       | III |
| Pepsine 25 . . . . .                                                          | +                          | +        | +   |
| — 30 . . . . .                                                                | <u>+</u>                   | <u>+</u> | +   |
| — 40 . . . . .                                                                | +                          | +        | +   |
| — 50 . . . . .                                                                | +                          | +        | +   |

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>Page 35 | TAMIS N° 12 - TROIS ESSAIS |          |          |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------|----------|
|                                                                               | I                          | II       | III      |
| Pepsine 30 . . . . .                                                          | <u>+</u>                   | <u>+</u> | <u>+</u> |
| — 35 . . . . .                                                                | <u>+</u>                   | +        | +        |
| — 40 . . . . .                                                                | +                          | +        | +        |
| — 50 . . . . .                                                                | +                          | +        | +        |

ABBREVIATIONS : + — Médiocre (alb. incomp. dis.); + Bon (alb. presque complètement dissoute).

Si on emploie le tamis n° 6, la pepsine titre 100 français répondra à l'essai allemand. Avec ce dernier tamis, l'essai de la pharmacopée allemande aura la même rigueur que celle de la pharmacopée française.

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>Page 35 | TAMIS N° 6 - TROIS ESSAIS |          |          |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------|----------|
|                                                                               | I                         | II       | III      |
| Pepsine L. P. 50 . . . . .                                                    | <u>+</u>                  | <u>+</u> | <u>+</u> |
| — 100 . . . . .                                                               | +                         | +        | +        |
| — 150 . . . . .                                                               | +                         | +        | +        |
| — 200 . . . . .                                                               | +                         | +        | +        |

| TITRE DES PEPSINES<br>OBTENUES PAR DILUTION<br>DE LA PEPSINE A 400<br>Page 35 | TAMIS N° 6 - TROIS ESSAIS |          |          |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------|----------|
|                                                                               | I                         | II       | III      |
| Pepsine L. P. 50 . . . . .                                                    | <u>+</u>                  | <u>+</u> | <u>+</u> |
| — 60 . . . . .                                                                | <u>+</u>                  | <u>+</u> | <u>+</u> |
| — 70 . . . . .                                                                | <u>+</u>                  | <u>+</u> | <u>+</u> |
| — 80 . . . . .                                                                | <u>+</u>                  | <u>+</u> | <u>+</u> |
| — 90 . . . . .                                                                | <u>+</u>                  | +        | <u>+</u> |
| — 100 . . . . .                                                               | +                         | +        | +        |
| — 110 . . . . .                                                               | +                         | +        | +        |

ABRÉVIATIONS : + — Médiocre (alb. incomp. dis.) ; + Bon (alb. presque complètement dissoute).

La méthodes d'essai de la pharmacopée allemande ne précisant pas assez certains détails, nous ne pouvons d'une façon certaine, DÉTERMINER LE COEFFICIENT DE TRANSFORMATION DU TITRE DE LA PEPSINE STANDARD ALLEMANDE EN TITRE FRANÇAIS.

B) Titre des Pepsines Etrangères suivant la Pharmacopée Française

Dans cette partie de notre travail, nous allons essayer de résoudre le problème inverse de celui que nous venons d'étudier ; c'est-à-dire, essayer de déterminer le titre des pepsines étrangères d'après l'essai du Codex français.

I. — *Titres de pepsines anglaises déterminés par l'essai  
du Codex français*

Nous avons pu nous procurer des échantillons d'une pepsine anglaises sous deux formes (granulée et pulvérisée).

Ces échantillons provenaient des Usines Armour and Co, par l'intermédiaire de la maison Moriss à Paris et leur titre Anglais garanti était de I : 10.000.

Nous avons vérifié le titre de ces pepsines suivant la pharmacopée anglaise et obtenu des résultats satisfaisants.

Nous avons entrepris de rechercher quel était le poids de cette pepsine capable de digérer, suivant la méthode du Codex français 2 gr. 50 de fibrine sèche.

Nous avons ensuite procédé au même essai en employant des doses croissantes de pepsine. On s'aperçoit dès les premiers essais qu'un poids de 0,014 de cette pepsine suffit à digérer 2 gr. 50 de fibrine sèche en suivant le procédé du Codex français.

| PEPSINE EN POUDRE<br>à 10.000 titres anglais |                                                       |       |       |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------|-------|
| PRISES<br>D'ESSAIS                           | TOUCHE AZOTIQUE<br>NOMBRE DE GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE |       |       |
|                                              | XV                                                    | XX    | XXX   |
| 0,005                                        | T F                                                   | Pté F | Pté F |
| 0,006                                        | T                                                     | Pté   | Pté   |
| 0,007                                        | T                                                     | T     | Pté   |
| 0,008                                        | T                                                     | T     | Pté   |
| 0,009                                        | L                                                     | L     | T     |
| 0,010                                        | Op                                                    | Op F  | T     |
| 0,011                                        | Op                                                    | Op F  | T     |
| 0,012                                        | Op                                                    | Op    | L     |
| 0,013                                        | Op                                                    | Op    | L     |
| 0,014                                        | O                                                     | O     | Op    |
| 0,015                                        | O                                                     | O     | Op    |
| 0,016                                        | O                                                     | O     | Op    |
| 0,017                                        | O                                                     | O     | Op    |
| 0,018                                        | O                                                     | O     | Op    |
| 0,019                                        | O                                                     | O     | Op    |
| 0,020                                        | O                                                     | O     | O     |
| Témoin 0,10<br>Pep. F. 100                   | O                                                     | O     | Op    |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op. (opalescence); O (filtrat reste clair).

Nous avons, dans une deuxième série d'essais, doublé tous les constituants pour obtenir une erreur relative moins grande; nous nous sommes aperçus que 0,028 de pepsine était alors nécessaire pour digérer 5 grammes de fibrine dans les mêmes conditions.

De plus, nous avons fait l'essai par l'anneau azotique, suivant le procédé indiqué plus haut, à propos de la vérification du titre des pepsines françaises.

| PEPSINE GRANULÉE<br>à 10.000 titres anglais<br>(tous les constituants de l'essai ont été doublés) |                                    |    |     |                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|----|-----|-------------------|
| PRISES<br>D'ESSAIS                                                                                | TOUCHE AZOTIQUE                    |    |     |                   |
|                                                                                                   | NOMBRE DE GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE |    |     |                   |
|                                                                                                   | XV                                 | XX | XXX | ANNEAU            |
| 0,020                                                                                             | Op                                 | Op | T   | A 2 $\frac{m}{m}$ |
| 0,021                                                                                             | Op                                 | Op | T   | A 2 $\frac{m}{m}$ |
| 0,022                                                                                             | Op                                 | Op | T   | A 2 $\frac{m}{m}$ |
| 0,023                                                                                             | Op                                 | Op | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,024                                                                                             | O                                  | Op | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,025                                                                                             | O                                  | Op | Op  | Vb                |
| 0,026                                                                                             | O                                  | Op | Op  | Vb                |
| 0,027                                                                                             | O                                  | Op | Op  | Vb                |
| 0,028                                                                                             | O                                  | O  | O   | Vb                |
| 0,029                                                                                             | O                                  | O  | O   | O                 |
| 0,030                                                                                             | O                                  | O  | O   | O                 |
| 0,040                                                                                             | O                                  | O  | O   | O                 |
| Témoin Pep. Fr.<br>Titre 100 0,20                                                                 | O                                  | O  | Op  | Vb                |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); A (anneau); Vb (voile bleu).

Ainsi dans la moyenne des résultats, 0,014 de pepsine donne le titre 100 français et équivaut par suite à 0,10 de pepsine de ce titre. Le titre X français correspondant à cette pepsine est donc de :

$$0,014 \times X = 0,10 \times 100 \text{ d'où } X = \frac{0,10}{0,014} \times 100 = 700 \text{ environ}$$

La pepsine au titre 700 français correspondant au titre 10.000 anglais, on retrouve donc le coefficient de transformation 14 déjà trouvé.

II. — *Titres des pepsines américaines déterminés par l'essai du Codex français.*

Nous avons de même que les pepsines anglaises, soumis les pepsines des États-Unis à l'essai du Codex français.

La maison Moriss a bien voulu nous procurer les pepsines suivantes :

1° Pepsine granulée au titre I : 3000 U.S.P.

2° Pepsine en poudre au titre I : 3000 U.S.P.

3° Pepsine granulée au titre I : 5000 U.S.P.

4° Pepsine (dite scale) à dissolution rapide au titre I:5000 U.S.P.

De même que dans le procédé anglais, nous avons recherché la quantité de chacune de ces pepsines, capable de digérer 2 gr. 50 de fibrine sèche.

Le titre de ces pepsines a été vérifié suivant le procédé de leur pharmacopée.

Nous avons fait une première série d'essais avec des doses de pepsines croissant de milligramme en milligramme.

| PEPSINE GRANULÉE T. I: 5.000 U. S. P. |                                                       |    |       |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------|----|-------|
| PRISES<br>D'ESSAI                     | TOUCHE AZOTIQUE<br>NOMBRE DE GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE |    |       |
|                                       | XV                                                    | XX | XXX   |
| 0,010                                 | L                                                     | L  | Pté F |
| 0,011                                 | L                                                     | L  | Pté F |
| 0,012                                 | L                                                     | T  | Pté   |
| 0,013                                 | L                                                     | T  | Pté   |
| 0,014                                 | L                                                     | T  | T     |
| 0,015                                 | L                                                     | T  | T     |
| 0,016                                 | L                                                     | T  | T     |
| 0,017                                 | L                                                     | T  | T     |
| 0,018                                 | L                                                     | T  | T     |
| 0,019                                 | Op                                                    | L  | T     |
| 0,020                                 | O                                                     | O  | L     |
| 0,021                                 | O                                                     | O  | Op    |
| 0,022                                 | O                                                     | O  | Op    |
| 0,023                                 | O                                                     | O  | Op    |
| 0,024                                 | O                                                     | O  | Op    |
| 0,025                                 | O                                                     | O  | Op    |
| Témoin Pep. Fr.<br>Titre 100, 0.10    | O                                                     | O  | Op    |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); Pté F (précipité abondant; Pté (précipité).

PEPSINE GRANULÉE T. I : 3.000 U. S. P.

| PRISES<br>D'ESSAIS | TOUCHE AZOTIQUE<br>Nombre de gouttes d'acide azotique |       |       | PRISES<br>D'ESSAIS               | TOUCHE AZOTIQUE<br>Nombre de gouttes d'acide azotique |    |     |
|--------------------|-------------------------------------------------------|-------|-------|----------------------------------|-------------------------------------------------------|----|-----|
|                    | XV                                                    | XX    | XXX   |                                  | XV                                                    | XX | XXX |
| 0,005              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,018                            | Op                                                    | T  | T F |
| 0,006              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,019                            | O                                                     | T  | T F |
| 0,007              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,020                            | O                                                     | T  | T F |
| 0,008              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,021                            | O                                                     | T  | T F |
| 0,009              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,022                            | O                                                     | T  | T F |
| 0,010              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,023                            | O                                                     | T  | T F |
| 0,011              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,024                            | O                                                     | T  | T F |
| 0,012              | T F                                                   | Pté F | Pté F | 0,025                            | O                                                     | L  | T F |
| 0,013              | T                                                     | T F   | Pté   | 0,026                            | O                                                     | Op | T F |
| 0,014              | Op F                                                  | T F   | Pté   | 0,027                            | O                                                     | Op | L   |
| 0,015              | Op F                                                  | T F   | Pté   | 0,028                            | O                                                     | Op | Op  |
| 0,016              | Op                                                    | T     | T F   | 0,029                            | O                                                     | O  | O   |
| 0,017              | Op                                                    | T     | T F   | 0,030                            | O                                                     | O  | Op  |
|                    |                                                       |       |       | Témoin Pep. Fr.<br>100, 0 gr. 10 | O                                                     | O  | Op  |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); Pté F (précipité abondant); Pté (précipité).

Puis, de même que dans l'essai des pepsines anglaises, nous avons aussi doublé les constituants de l'essai pour obtenir des résultats plus précis.

PEPSINE GRANULÉE à T. I : 5.000 U. S. P.

(Tous les constituants de l'essai ont été doublés)

| PRISES<br>D'ESSAI | TOUCHE AZOTIQUE<br>NOMBRE DE GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE |    |     |                   |
|-------------------|-------------------------------------------------------|----|-----|-------------------|
|                   | XV                                                    | XX | XXX | Anneau            |
| 0,032             | Op                                                    | T  | T F | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,033             | Op                                                    | T  | T F | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,034             | Op                                                    | T  | T F | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,035             | Op                                                    | T  | T F | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,036             | Op                                                    | T  | T F | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,037             | Op                                                    | Op | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,038             | Op                                                    | Op | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,039             | O                                                     | Op | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,040             | O                                                     | O  | Op  | Vb                |
| 0,041             | O                                                     | O  | Op  | Vb                |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); A (anneau); Vb (voile bleu).

| <b>PEPSINE GRANULÉE A TITRE I : 3.000 U. S. P.</b><br>(Tous les constituants de l'essai ont été doublés) |                                                                     |     |     |                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----|-----|-------------------|
| <b>PRISES<br/>D'ESSAIS</b>                                                                               | <b>TOUCHE AZOTIQUE</b><br><b>NOMBRE DE GOUTTES D'ACIDE AZOTIQUE</b> |     |     |                   |
|                                                                                                          | XV                                                                  | XX  | XXX | Anneau            |
| 0,048                                                                                                    | O                                                                   | Pté | T   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,049                                                                                                    | O                                                                   | Pté | T   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,050                                                                                                    | O                                                                   | T F | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,051                                                                                                    | O                                                                   | T F | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,052                                                                                                    | O                                                                   | TF  | L   | a 1 $\frac{m}{m}$ |
| 0,053                                                                                                    | O                                                                   | L   | Op  | Vb                |
| 0,054                                                                                                    | O                                                                   | L   | Op  | Vb                |
| 0,055                                                                                                    | O                                                                   | L   | Op  | Vb                |
| 0,056                                                                                                    | O                                                                   | Op  | O   | Vb                |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); a (anneau); Vb (voile bleu); Pté (précipité).

Il résulte de tous ces essais, que 0,020 de pepsine au titre I : 5.000 U S P équivaut à 0,10 de pepsine française au titre I : 100.

Le titre de cette pepsine est de :

$$0,020 \times X = 0,10 \times 100 \text{ d'où } X = \frac{0,10}{0,020} \times 100 = 500$$

Cette pepsine au titre français 500 correspond au titre I : 5.000 U S P et il ressort que le COEFFICIENT DE TRANSFORMATION reste toujours de 10. Par le même raisonnement on trouve que la PEPSINE AU TITRE I : 3.000 U S P correspond au titre 300 français environ.

## CHAPITRE VII

---

### **Titrage des pepsines françaises et étrangères suivant un procédé commun**

---

Les essais des pharmacopées sont destinés surtout à fixer le titre limite et non le titre exact d'une pepsine.

Au moyen des essais de quelques pharmacopées, nous venons de chercher les correspondances entre les titres de différentes pepsines normales. Nous avons avec chaque essai fait de véritables titrages, mais il nous a paru intéressant de vérifier ces correspondances par un procédé de titrage commun très précis.

Nous avons le choix entre plusieurs méthodes : la méthode chronométrique de Léon Meunier, les méthodes viscosimétrique, réfractométrique et polarimétrique, la méthode des tubes de Mett, celle de Jacoby à la ricine. Nous avons écarté ces essais, soit parce qu'ils ne donnent pas de données numériques satisfaisantes, soit qu'ils exigent une durée trop longue.

Le procédé de Fuld couramment employé aux Etats-Unis nous a paru le plus rapide et le plus précis ; il emploie l'édestine comme matière passive.

Avant d'exposer le procédé, nous allons étudier les propriétés et la préparation de la matière passive employée.

#### A) Matière passive

1° PROPRIÉTÉS. — L'édestine est une globuline végétale, extraite pour la première fois par Rithausen et Osborne en 1881 des semences de chanvre (*canabis sativa*).

Elle est insoluble dans l'eau pure, mais soluble dans une solution chlorhydrique à 0.25 % d'où elle peut être précipitée totalement par le chlorure de sodium à saturation; elle est également précipitable par l'acide azotique et l'acétate de soude. Elle donne la réaction de Millon.

La propriété la plus remarquable de cette matière albuminoïde est de cristalliser dans des solutions salines neutres avec formation d'une véritable combinaison.

On peut facilement mettre en évidence ces cristaux dans les semences de chanvre. Pour cela, on broye au mortier 5 gr. de chenevis; on les fait macérer pendant une demi-heure dans un B. M., réglé à 60°, avec 25 ou 30 cm<sup>3</sup> de chlorure de sodium à 5 %. On filtre et on abandonne le tout à un refroidissement très lent

L'édestine se dépose et elle apparaît, au microscope, sous forme d'octaèdres assez typiques, parmi les débris végétaux et les globules graisseux.

2° PRÉPARATION. — La préparation de l'édestine a été étudiée par de nombreux auteurs, en particulier par Fuld et Levisson et R.-H.-A. Plummer [31]. Cette préparation figure également dans les thèses récentes de Renaud, Frossard et J. Plé (32) (15) (30). Tous ces procédés ne diffèrent entre eux que par de petits détails de préparation; ils consistent tous à retirer par épuisement des graines de chenevis, l'huile qu'elles renferment, puis à précipiter l'édestine par une solution de chlorure de sodium à 5 % à la température de 60°. On la purifie soit au moyen de solvants successifs : eau distillée, alcool absolu, éther anhydre, soit par dialyse.

On dessèche cette matière protéique à une basse température ou de préférence dans le vide.

Le procédé G. Bertrand diffère des procédés mentionnés ci-dessus en ce qu'il utilise la baryte en présence du chlorure de sodium pour précipiter l'édestine [4].

Pour notre part, voici la technique que nous avons adoptée :

Les semences de chanvre préalablement broyées sont épuisées par de l'éther de pétrole dans une allonge en verre fermée à sa partie inférieure par un robinet au-dessus duquel on place un tampon de coton hydrophile.

On verse assez d'éther de pétrole pour recouvrir le chenevis, le tout est laissé en contact pendant une demi-heure. Après avoir laissé écouler le liquide chargé de graisses, on recommence l'opération. Après 5 ou 6 opérations semblables, l'éther traversant la couche de poudre sans se colorer, on peut considérer le dégraissage comme terminé.

Après avoir séparé par tamisation, les fragments d'enveloppe insuffisamment broyés, on fait une macération à la température de 60° au Bain-Marie de la poudre ainsi obtenue avec son poids de solution de chlorure de sodium à 10 %.

La macération est ensuite filtrée sur un entonnoir à filtration chaude à la température de 60°. Le magma restant sur le filtre est exprimé dans un nouet de gaze ; on filtre à chaud le liquide qui s'écoule. Les deux filtrats sont réunis ; leur mélange est dialysé dans un sac en cellophane, d'abord contre de l'eau courante ordinaire et ensuite contre de l'eau distillée. Dans les dialyseurs apparaît l'édestine sous forme de poudre grise. Au bout de 3 ou 4 jours la précipitation de l'édestine est complète. Le précipité contenu dans le dialyseur est lavé avec de l'alcool, puis de l'éther anhydre, l'édestine est desséchée dans le vide à la température de 50°.

3° CARACTÈRE D'IDENTITÉ. — On peut faire cristalliser l'édestine en la délayant dans une solution de chlorure de sodium à 10 % afin que la concentration soit d'environ 8 %. La solution est filtrée, chauffée à 60° et additionnée peu à peu, en agitant, de 2 fois son volume d'eau chauffée à la même température.

On laisse refroidir le liquide, puis on le maintient pendant quelques heures à la glacière ; l'édestine se dépose peu à peu en cristaux octaédriques visibles au microscope.

#### B) Méthode de Fuld

L'exécution de cet essai exige les solutions suivantes :

SOLUTION A. — Prendre 90 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique N/10 et ajouter de la solution physiologique ou simplement de l'eau pour arriver à un volume de 300 cm<sup>3</sup>.

SOLUTION B. — Dissoudre 0.2 d'édestine dans 200 cm<sup>3</sup> de solu-

tion A. Bien délayer dans un petit mortier et quand la solution est complète, filtrer pour avoir un liquide parfaitement clair.

**SOLUTION C.** — Dissoudre 0,5 de pepsine type dans 50 cm<sup>3</sup> d'eau physiologique. Quand tout est dissous, filtrer la solution type à 1 0/0 et l'étendre successivement à 0.5 % en ajoutant un volume égal d'une solution renfermant 60 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique N/10 pour 100 cm<sup>3</sup> puis à 0,05 % avec la solution d'Hcl (A).

SOLUTION D. — Dissoudre 10 gr. de sel marin dans l'eau distillée, compléter à 100 cm<sup>3</sup> et filtrer.

On prépare 10 tubes de 1 cm de diamètre renfermant chacun 2 cm<sup>3</sup> de solution B, puis 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0 cm<sup>3</sup> de sol. A., enfin 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1 cm<sup>3</sup> de sol. diastasique C, à 0,5 % ou à 0,05 %.

Après 30 minutes à la température ordinaire on ajoute dans chaque tube 1 cm<sup>3</sup> de solution D et l'on note le tube où la précipitation se produit.

### Example :

En prenant une solution de pepsine à 0.05 % on constate :

Solution de pepsine de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1

La précipitation cesse d'apparaître avec 0.6 de solution de pepsine à 0.05 %.

CALCUL : 100 cm<sup>3</sup> de solution pepsique à 0.05 % contiennent 0 gr. 05 de pepsine type. Par suite 0.6 solution pepsique à 0.05 % renferme 0.00030 de pepsine type.

Donc 0.00030 de pepsine = 2 cm<sup>3</sup> de solution B = 2 mg.  
d'édésine, d'où 1 gr. de pepsine =  $\frac{2}{0.00030} = 6666 = 6 \text{ mg. } 666$   
d'édésine.

La force de cette pepsine qu'on prendra pour type de comparaison est donc de 6666 unités.

REMARQUE AU SUJET DE CE TITRAGE. — Dans cette méthode, on emploie une matière albuminoïde que l'on peut purifier par cristallisation et dialyse; cependant, les manipulations nécessaires pour sa préparation sont assez compliquées; c'est ce qui explique qu'aucun procédé d'essai des pharmacopées n'emploie cette ma-

tière passive. Nous avons vérifié l'édestine que nous avons préparée par comparaison avec de l'édestine allemande provenant de la fabrique de produits chimiques Th. Schuchart. Les résultats obtenus au moyen de ces deux produits étant identiques, nous avons indifféremment employé l'un ou l'autre de ces produits pour nos titrages.

Nous avons exécuté nos titrages en prenant les précautions suivantes :

1° Les quantités de solution de pepsine ont été ajoutées à la solution d'édestine avec des pipettes divisées en centièmes de  $\text{cm}^3$  analogues à celles que l'on emploie pour les réactions sériques.

2° Fuld ne précisant pas la température exacte à laquelle les titrages doivent être opérés, nous les avons exécutés à une température se rapprochant de  $20^\circ$ .

3° Nous avons chronométré exactement le temps de digestion et ajouté le plus rapidement possible la solution de chlorure de sodium dans les tubes pour qu'il n'y ait pas de différence de temps de contact entre les premiers et derniers essais de chaque titrage. Nous avons versé avec précaution dans chaque tube la solution de chlorure de sodium à la surface du digesté. Nous avons observé s'il se produisait un anneau puis agité les tubes sans faire mousser le milieu.

La lecture des tubes a eu lieu sur fond noir, nous avons noté du signe + tous les tubes dans lesquels se produisait un précipité, un trouble, un louche voire même une opalescence et du signe — ceux dont le liquide était parfaitement limpide.

Les chiffres figurant dans nos tableaux proviennent de moyennes d'essais répétés.

### C) Essais préliminaires

Nous avons cherché l'équivalence entre les titres français d'un certain nombre de pepsines et les titres déterminés par la méthode de Fuld.

Dans une première série d'essais nous avons établi cette équivalence avec des pepsines à titre croissant de 100 en 100.

| TITRE<br>DES PEPSINES<br>suivant le<br>Codex Français | cm <sup>3</sup> SOLUTION<br>DE PEPSINE<br>à 0.05 % | TITRE<br>EN UNITÉS<br>de Fuld |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------|
| 100                                                   | 0.8                                                | 5.000                         |
| 200                                                   | 0.4                                                | 10.000                        |
| 300                                                   | 0.25                                               | 16.000                        |
| 400                                                   | 0.2                                                | 20.000                        |
| 500                                                   | 0.15                                               | 26.666                        |

Dans une deuxième série d'essais nous avons établi cette correspondance avec des titres croissant de 10 en 10.

| TITRE<br>DES PEPSINES<br>suivant le<br>Codex Français | cm <sup>3</sup> SOLUTION<br>DE PEPSINE<br>à 0.05 % | TITRE<br>DES PEPSINES<br>suivant le<br>Codex Français | cm <sup>3</sup> SOLUTION<br>DE PEPSINE<br>à 0.05 % |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 100                                                   | 0.80                                               | 230                                                   | 0.37                                               |
| 110                                                   | 0.76                                               | 240                                                   | 0.36                                               |
| 120                                                   | 0.72                                               | 250                                                   | 0.35                                               |
| 130                                                   | 0.68                                               | 260                                                   | 0.34                                               |
| 140                                                   | 0.64                                               | 270                                                   | 0.33                                               |
| 150                                                   | 0.60                                               | 280                                                   | 0.32                                               |
| 160                                                   | 0.56                                               | 290                                                   | 0.31                                               |
| 170                                                   | 0.52                                               | 300                                                   | 0.30                                               |
| 180                                                   | 0.48                                               | 310                                                   | 0.29                                               |
| 190                                                   | 0.44                                               | 320                                                   | 0.28                                               |
| 200                                                   | 0.40                                               | 330                                                   | 0.27                                               |
| 210                                                   | 0.39                                               | 340                                                   | 0.26                                               |
| 220                                                   | 0.38                                               | 350                                                   | 0.25                                               |

Ces nombres étant proportionnels aux titres calculés en unités de Fuld, nous n'avons noté dans ce tableau que les nombres de cm<sup>3</sup> de pepsine nécessaires pour digérer 2 mg. d'édestine dans les conditions de ce titrage.

Ces chiffres vont nous permettre de trouver l'équivalence entre les titres des pepsines françaises et étrangères étudiées.

D) Titre des Pepsines étrangères d'après la méthode de Fuld

A. Titre d'une pepsine Anglaise

Nous avons titré suivant cette même méthode une pepsine au titre I : 2.500 anglais.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

| NOMBRE de cm <sup>3</sup><br>DE SOLUTION<br>DE PEPSINE<br>à 0.05 % | RÉSULTAT<br>DE L'ESSAI | Titre Français<br>correspondant |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| 0.80                                                               | —                      | 100                             |
| 0.76                                                               | —                      | 110                             |
| 0.72                                                               | —                      | 120                             |
| 0.68                                                               | —                      | 130                             |
| 0.64                                                               | —                      | 140                             |
| 0.60                                                               | —                      | 150                             |
| 0.56                                                               | —                      | 160                             |
| 0.52                                                               | +                      | 170                             |
| 0.48                                                               | +                      | 180                             |
| 0.44                                                               | +                      | 190                             |
| 0.40                                                               | +                      | 200                             |

ABRÉVIATIONS : + Précipitation avec NaCl ; — Absence de précipitation.

Nous voyons ainsi que la pepsine 170 français correspond au titre 2500 anglais.

*B. Titre d'une pepsine U. S. P. (Américaine).*

De même que les pepsines anglaises, nous avons titré les pepsines U. S. P. suivant la méthode de Fuld.

Le tableau suivant donne les résultats obtenus. Nous constatons qu'une pepsine I : 3.000 U. S. P. correspond à une pepsine titre I : 300 français.

| NOMBRE de cm <sup>3</sup><br>DE SOLUTION<br>DE PEPSINE<br>à 0.05 % | RÉSULTAT<br>DE L'ESSAI | Titre Français<br>correspondant |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| 0.40                                                               | —                      | 200                             |
| 0.39                                                               | —                      | 210                             |
| 0.38                                                               | —                      | 220                             |
| 0.37                                                               | —                      | 230                             |
| 0.36                                                               | —                      | 240                             |
| 0.35                                                               | —                      | 250                             |
| 0.34                                                               | —                      | 260                             |
| 0.33                                                               | —                      | 270                             |
| 0.32                                                               | —                      | 280                             |
| 0.31                                                               | —                      | 290                             |
| 0.30                                                               | +                      | 300                             |
| 0.29                                                               | +                      | 310                             |
| 0.28                                                               | +                      | 320                             |
| 0.27                                                               | +                      | 330                             |
| 0.26                                                               | +                      | 340                             |

ABRÉVIATIONS : + Précipité, trouble, louche ou opalescence ;  
— Liquide reste clair.

En résumé : des deux chapitres qui précèdent, le titre de la pepsine normale ou “Standard” de chacune des pharmacopées étudiées peut-être exprimé comme suit :

La pepsine normale ou “Standard” de la pharmacopée française titre I : 100 français.

Celle de la pharmacopée belge titre I : 100 belge et I : 140 français.

Celle de la pharmacopée anglaise titre I : 2500 anglais et I : 170 français.

Celle de la pharmacopée des Etats-Unis titre I : 3000 U. S. P. et I : 300 français.

Le coefficient de transformation d'un titre français en titre étranger sera de :

0.7 pour le titre belge ;

14,7 pour le titre anglais ;

10 pour le titre des Etats-Unis ;

et celui d'un titre étranger en titre français sera de :

1,4 pour le titre belge ;

0,068 pour le titre anglais ;

0,10 pour le titre des Etats-Unis.

ON PEUT DONC, EN CONNAISSANT LE TITRE D'UNE PEPSINE ÉTRANGÈRE, DÉTERMINER SON TITRE FRANÇAIS ET RÉCIPROQUEMENT, DÉTERMINER LE TITRE DE LA PEPSINE FRANÇAISE SUIVANT LES PHARMACOPÉES ÉTRANGÈRES.

---

## TROISIÈME PARTIE

---

### MODIFICATION DE L'ESSAI DU CODEX FRANÇAIS

---

#### CHAPITRE VIII

---

#### **Modifications proposées par différents auteurs**

---

##### A) Considérations générales

Nous avons vu que l'essai du Codex français 1908 était déjà en grand progrès sur celui de 1884.

En effet, à la suite des travaux de Disdier, de Petit, de Macquaire, de Portes et de Bourquelot il élevait le titre minimum de la pepsine, employait la fibrine sèche, matière passive relativement stable, apportait enfin plus de précision dans la marche de l'essai et dans l'épreuve azotique.

Si on ne considère que le contrôle de la réaction, cet essai en utilisant la précipitation azotique, ne se contente pas d'une dissolution plus ou moins complète de la matière passive qui, ainsi que nous l'avons vu, marque la fin des essais étrangers mais exige une digestion déjà avancée. Certaines pharmacopées, il est vrai (par exemple les pharmacopées italienne et suisse) prescrivent bien le contrôle de la réaction au moyen de l'acide azotique, mais elles n'indiquent ni la quantité de cet acide qu'il faut ajouter, ni sa densité, ni la température à laquelle le contrôle doit être effectué.

L'essai du Codex français actuel paraît être le plus précis des essais pharmacologiques.

Aussi, lorsque dans son ouvrage sur les ferments protéolytiques M. Javillier dit : « L'essai du Codex français est le plus exigeant de tous les Codex », cela veut dire qu'il est le plus rigoureux, quant aux conditions dans lesquelles il doit être exécuté, mais cela ne veut pas dire qu'il détermine une pepsine plus active que celle des autres pharmacopées. Au contraire, bien que les différences qui existent entre les titres des pepsines normales ou « Standard » française et étrangères ne soient pas si considérables qu'on puisse le croire tout d'abord, il n'en est pas moins vrai que la pepsine officielle française a une activité moins grande que celle des pepsines anglaise, belge ou des Etats-Unis.

Nous ne pensons pas que l'intérêt de cette question consisterait à établir un essai international. Cette idée est prématurée, car elle obligerait à ramener toutes les pepsines françaises et étrangères au même titre. Nous estimons cependant qu'il serait bon d'ajuster cet essai à ceux des pharmacopées étrangères suivant les progrès réalisés dans les procédés d'extraction des pepsines.

Avant d'entrer dans les détails des recherches que nous avons entreprises, nous allons examiner rapidement quelques modifications proposées par certains auteurs pour rendre le procédé du Codex français plus pratique, tout en lui gardant sa précision.

#### B) Modifications de la matière passive

On peut dire que presque tous les auteurs qui ont étudié la pepsine au point de vue pharmacologique ont proposé des essais différents; mais aucun de ces essais n'a été adopté parce que tous possédaient des tares résultant de certaines imprécisions des conditions dans lesquelles ils devaient être effectués.

Ces modifications portaient surtout sur la matière passive.

Nous rappellerons pour mémoire les essais de substitution d'albumines différentes à la fibrine; l'albumine d'œuf par exemple, employée sous des formes différentes, soit fraîche, soit coagulée, battue, précipitée ou desséchée, voire même la caséine et la gélatine.

Ces matières albuminoïdes, sauf l'albumine d'œuf coagulée, n'offrent pas de gros avantages sur la fibrine pour diverses rai-

sons dont les principales sont que : le blanc d'œuf frais est d'un emploi difficile dans les pesées, l'albumine battue est d'une préparation longue, l'albumine sèche est aussi longue à préparer que la fibrine sèche et plus difficile à syntoniser. La caséine a été rejetée, étant difficilement attaquable par la pepsine ; la gélatine se prête encore plus mal à la peptonisation.

Déjà en 1884, M. A. Petit proposait de remplacer dans l'essai du Codex de cette époque la fibrine par 5 grammes d'albumine d'œuf coagulée. Cette albumine devait être digérée en 4 ou 5 heures à 40° par 0 gr. 10 de pepsine dissoute dans 25 gr. Hcl dilué.

M. P. Vigier combattit alors l'emploi de l'albumine pour cet essai, parce qu'il donnait des résultats différents, suivant le degré de division de la substance [2], il était d'une imprécision remarquable et ne devait pas supplanter l'essai officiel, même avec ses imperfections d'alors. L'idée de rendre l'essai du Codex français plus pratique date par conséquent d'un certain temps.

### C) Modifications de la durée de l'essai

Les auteurs qui ont étudié les essais des Codex 1884 et 1908 ont pensé naturellement à en diminuer la durée ; en effet, il n'est pas toujours commode pour le pharmacien de surveiller la digestion pendant 6 heures en agitant le milieu de temps en temps.

Un essai rapide fût proposé par Byla pour remplacer celui du Codex de 1884 [7].

Cet essai était le suivant :

Sur 10 grammes de fibrine fraîche de porc exactement lavée et essorée, on verse 90 cm<sup>3</sup> d'eau à la température de 52°, on acidule aussitôt avec 10 gouttes d'acide chlorhydrique et on agite.

Au bout de quelques secondes, on voit la fibrine se gonfler et le mélange se prendre en gelée transparente de consistance ferme.

On ajoute alors la dose de ferment correspondante à celle que nécessiterait le titre recherché, pour une peptonisation régulière, c'est-à-dire :

0 gr. 10 de pepsine titrant 100.

0 gr. 20 de pepsine titrant 50.

0 gr. 50 de pepsine titrant 20.

Si la pepsine est au titre voulu, la liquéfaction a lieu instantanément par agitation.

Astruc propose la même modification à l'essai du Codex de 1908.

L'objection que l'on pourrait faire à cet essai, c'est qu'il n'apprécie le pouvoir protéolytique de la pepsine que d'après son pouvoir syntonisant; or, il peut se trouver parmi les pepsines commerciales, des pepsines falsifiées contenant certains acides dissolvant la fibrine; pour notre part, nous n'avons jamais rencontré ces pepsines que Brancaz, en particulier signale [7].

Cependant, si le pouvoir peptonisant de la pepsine correspond en général à son pouvoir dissolvant, nous pouvons craindre, avec des pepsines falsifiées, des mécomptes dans l'emploi de ces procédés, puisque cette dissolution de la fibrine n'est pas l'apanage de la pepsine.

#### D) Modifications du contrôle de l'essai

Nous rappellerons rapidement les modifications dans le contrôle de la réaction qui ont été ou qui peuvent être proposées pour apprécier la dégradation protéique dans l'essai du Codex français.

Au début de ce travail, nous avons énuméré rapidement les procédés de dosage de la pepsine; nous avons vu qu'ils étaient bien différents et que le contrôle de la réaction était fixé à une phase déterminée de la dégradation protéique. Nous allons examiner les avantages et les inconvénients de certains contrôles en eux-mêmes indépendamment des facteurs de la digestion.

1° *Contrôle par l'anneau azotique.* — La précipitation azotique telle que nous l'avons employée page 48 n'indique pas certainement la transformation de la matière protéique en peptones, mais marque assez bien la transformation de l'albumine en des produits plus dégradés : albumoses et peptones.

2° *Contrôle par déviation polarimétrique.* — La méthode de Schütz [35], qui consiste à apprécier la dégradation protéique par la grandeur du pouvoir rotatoire gauche du liquide de diges-

tion, semblerait avoir l'avantage de fournir des données numériques. Le travail de dégradation de la pepsine serait d'autant plus avancé que le pouvoir rotatoire et la grandeur moléculaire seraient moins élevées; or, Choay, a montré que les grandeurs moléculaires des produits d'hydrolyse diminuent peu et constate que le travail de dégradation, dans les conditions de l'essai du Codex français, n'est pas facilement mis en évidence par ce procédé. Il n'a obtenu, dans les conditions de l'essai du Codex français, que des différences de  $-5^{\circ} 5'$  à  $-4^{\circ} 42'$  pour des doses de pepsine comprise entre 0 gr. 05 et 0 gr. 40.

3° *Contrôle par la réaction du biuret.* — Fouillouze et Picot ont essayé de mettre à profit la réaction du biuret pour tenter d'apprécier la dégradation protéique [14].

A partir du moment où ils n'obtenaient plus de trouble par l'acide azotique, ils traitaient le digestat prélevé à périodes fixes, par quelques gouttes de lessive de soude et de sulfate de cuivre à 2 % ; ils obtenaient une coloration rose violacée, tirant d'autant plus sur le violet que le digestat contenait plus de peptones. Finalement, les peptones, transformées en produits aminés ne donnaient plus de coloration. Ils distinguaient une coloration faible, forte et nulle.

Cette réaction n'indique pas une phase suffisamment nette de la dégradation protéique, puisque nous avons vu à propos de l'activité protéolytique de la pepsine que de petites quantités de peptones peuvent se former dès le début de la digestion.

4° *Contrôle par la méthode de Sørensen.* — Schiff avait remarqué que les solutions neutres d'acides aminés devenaient acides par addition de formol neutre. Sørensen s'inspira de cette propriété pour établir un procédé dans lequel la mesure de l'acidité produite correspondait à l'azote des produits aminés. [36]. Ce procédé paraîtrait plus intéressant que le contrôle par la déviation polarimétrique, car il ne nécessite pas l'emploi d'instruments spéciaux et pourrait être exécuté par tous les pharmaciens.

Nous étudierons en détail ce procédé dans le chapitre suivant.

## CHAPITRE IX

---

### **Essai de modification de la méthode du Codex de 1908**

---

Il ne semble pas que les essais de modification de la méthode du Codex que nous venons d'indiquer aient retenu outre mesure l'attention de la commission du Codex de 1908.

A notre tour, nous allons examiner dans l'essai du Codex actuel les points suivants :

L'AUGMENTATION DU TITRE LIMITE EXIGÉ PAR CET ESSAI ; LA SUBSTITUTION A LA FIBRINE D'UNE ALBUMINE PLUS FACILE A PRÉPARER ; LA DIMINUTION DE LA DURÉE DE L'ESSAI ; LA MODIFICATION DU CONTRÔLE DE LA RÉACTION.

#### **A) L'Augmentation du titre limite exigé par l'essai Français 1908**

Dans les procédés industriels actuels on obtient couramment des pepsines extractives titrant I : 200, I : 300 et I : 400 français. Pour ramener ces pepsines au titre I : 100, habituellement on les pulvérise et on les mélange avec des matières inertes (gomme, lactose, amidon, etc.). Ces poudres que l'on ajoute aux pepsines ne favorisent pas précisément leur conservation, soit qu'elles ferment des micro-organismes (moisissures, levures, voire même des coli-bacilles) ou qu'elles soient hygroscopiques.

Pour ces raisons il serait bon que le Codex prescrive, comme pepsine normale ou Standard, une pepsine non additionnée de poudre inerte.

Nous avons vu que la pepsine titre I : 100 français correspond

au titre I : 70 belge, au titre I : 1470 anglais et au titre I : 1000 U. S. P. alors que les pepsines normales de ces pharmacopées titrent respectivement I : 10 belge, I : 2500 anglais et I : 3000 U. S. P.

On pourrait donc, sans inconvénient, élever le titre de la pepsine normale française à 1 : 200 fr.

Le coefficient de transformation d'une pepsine française étant 0,7 en titre belge, de 14,7 en titre anglais et de 10 en titre U. S. notre pepsine à titre 1 : 200 équivaldrait donc aux titres suivants :

$$\begin{aligned} 200 \times 0,7 &= 140 \text{ belge} \\ 200 \times 14,7 &= 2940 \text{ anglais} \\ 200 \times 10 &= 2000 \text{ américain.} \end{aligned}$$

L'essai du Codex français déterminant alors de tels titres serait le suivant :

0 gr. 10 de pepsine  
5 gr. de fibrine sèche correspondant à 20 gr. Fib. Fr.  
3 gr. d'acide chlorhydrique officinal dilué.  
117 gr. eau distillée.

Nous voyons que 0 gr. 10 de pepsine doivent digérer 5 gr. de fibrine sèche, correspondant à 20 gr. de fibrine fraîche. Le titre limite sera donc de I : 200. Nous ferons remarquer que si tous les constituants de l'essai ont été doublés, la concentration en matière passive et le P. H. restent les mêmes que dans l'essai officiel du Codex.

L'essai serait exécuté de la façon suivante :

On introduit dans un flacon à paroi mince, la fibrine et l'eau distillée. Après agitation, pour homogénéiser la suspension de fibrine, on ajoute goutte à goutte l'acide chlorhydrique, puis on porte le flacon au B. M. à 50°. Lorsque le digestat a atteint la température du B. M. on ajoute alors la pepsine. On fait digérer pendant 6 heures en ayant soin d'agiter toutes les 10 minutes pendant la première heure et ensuite toutes les heures.

Au bout de 6 heures exactement, on porte le flacon sous un courant d'eau froide jusqu'à refroidissement complet; on filtre jusqu'à limpidité parfaite.

1° On met 10 cm<sup>3</sup> de filtrat dans des tubes ayant environ 15 cm.

de haut sur 12  $\frac{m}{m}$  de diamètre. On ajoute 20 gouttes d'acide azotique  $D = 1,34$  à raison de 1 goutte toutes les 9 secondes. On retourne le tube après addition de chaque goutte; à la 20<sup>me</sup> le filtrat ne doit pas être trouble, ou tout au plus légèrement opalescent. Ce contrôle doit être opéré à une température comprise entre 17 et 19°.

2° On verse 1 cm<sup>3</sup> d'acide azotique officinal dans des petits tubes de 5 cm de haut sur 10  $\frac{m}{m}$  de diamètre puis, avec une pipette très fine et sans mélanger, 1 cm<sup>3</sup> de filtrat à la surface de l'acide. Il ne doit pas se produire d'anneau opaque, tout au plus un léger voile bleu.

**B) Substitution à la fibrine d'une matière albuminoïde  
facile à préparer**

Nous avons vu qu'au point de vue pratique la fibrine de porc est la matière passive qui semble la plus favorable aux essais.

Elle a été étudiée par beaucoup d'auteurs et ses conditions de purification et de dessiccation sont assez bien déterminées.

Mais le pharmacien n'a pas toujours à sa disposition de la fibrine sèche ou bien il ne peut se procurer le sang nécessaire à la préparation de la fibrine fraîche.

Il serait intéressant pour lui d'avoir à sa disposition une matière albuminoïde courante.

Le blanc d'œuf coagulé qui jouit d'une grande vogue dans les pays étrangers est la matière albuminoïde la plus facile à se procurer et à préparer.

Nous avons vu que dans les pharmacopées étrangères, les conditions de préparation de l'albumine ne sont pas assez précisées, ce qui peut donner des résultats différents (exemple la pharmacopée allemande) mais cette matière albuminoïde peut rendre service lorsque ses conditions de cuisson, tamisation et de désagrégation sont bien déterminées. Nous avons donc essayé de substituer l'albumine d'œuf coagulée à la fibrine dans l'essai du Codex français.

Dans ce but nous avons préparé notre albumine de la façon suivante ;

1° *Coagulation.* — Le temps de coagulation a été fixé à 5 minutes, un temps moins long ne permettrait pas d'obtenir une albumine suffisamment consistante, un temps plus long donnerait une albumine plus difficile à digérer.

Après avoir plongé un œuf de poule frais (n'ayant pas plus de 5 jours) dans de l'eau en ébullition, nous l'avons retiré au bout de 5 minutes exactement. Après refroidissement sous courant d'eau froide, la pellicule a été enlevée et le blanc séparé très soigneusement du jaune sans le laver. Nous avons fait passer notre albumine à travers un tamis n° 10 bien propre en fer galvanisé. Cette albumine a été recueillie dans un cristallisoir recouvert d'une plaque de verre pour éviter la déshydratation.

Nous avons pratiqué nos essais de la façon suivante :

Avec un agitateur en verre à bout rodé nous avons désagréé, sans toutefois l'écraser, les fragments d'albumine, dans la moitié de l'eau nécessaire à l'essai chauffée à 50°, l'autre moitié ayant servi à dissoudre la pepsine. Après avoir réuni les deux solutions, nous avons ajouté l'acide chlorhydrique offinal dilué, puis porté le tout au B. M. soigneusement réglé à la température de 50°. Nous avons agité toutes les 5 min. Le contrôle de la réaction a été opéré suivant l'essai du Codex français.

Dans une première série d'essais nous avons obtenu les résultats suivants :

| NUMÉROS<br>DES<br>BALLONS | TOUCHE AZOTIQUE<br>20 gouttes d'acide azotique |          |          |          |
|---------------------------|------------------------------------------------|----------|----------|----------|
|                           | 1 heure                                        | 2 heures | 3 heures | 6 heures |
| N° 1                      | O                                              | O        | O        | O        |
| N° 2                      | O                                              | O        | O        | O        |
| N° 3                      | Pté                                            | L        | Op       | O        |
| N° 4                      | Pté                                            | T        | L        | Op       |

ABRÉVIATIONS : L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); Pté (précipité).

|             | Bl. d'œuf coag. | Eau dist. | Hcl. off. dil. | Pep. T. 200 |
|-------------|-----------------|-----------|----------------|-------------|
| Ballon n° 1 | 1.25            | 59.75     | xxx gouttes    | 0.10        |
| — n° 2      | 2.50            | 58.50     | xxx gouttes    | 0.10        |
| — n° 3      | 3.75            | 57.25     | xxx gouttes    | 0.10        |
| — n° 4      | 5 »             | 56 »      | xxx gouttes    | 0.10        |

La dissolution de l'albumine a été complète au bout d'une heure dans tous les ballons.

Nous nous apercevons dans tous ces essais, que au bout d'une heure, seules les digestions de 1 gr. 25 d'albumine et 2 gr. 50 d'albumine avec 0 gr. 10 de pepsine au titre 200 donnent une touche azotique satisfaisante

Nous nous apercevons qu'au bout de 6 heures la digestion est satisfaisante dans tous les ballons, sauf pour celui contenant 5 gr d'albumine.

#### C) Diminution de la durée de l'essai

La durée de une heure nous ayant paru séduisante, nous avons essayé de déterminer avec plus de précision la dose d'albumine pouvant être digérée par 0 gr. 10 de pepsine titre 200 au bout de ce temps.

| NUMÉRO<br>DES<br>BALLONS | TOUCHE AZOTIQUE<br>20 gouttes d'acide azotique |      |      |      |      |          |
|--------------------------|------------------------------------------------|------|------|------|------|----------|
|                          | 10 '                                           | 20 ' | 30 ' | 40 ' | 50 ' | 1 heures |
| N° 1                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté  | L    | O        |
| N° 2                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté  | T    | T        |
| N° 3                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté  | Pté  | Pté      |
| N° 4                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté  | Pté  | Pté      |
| N° 5                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté  | Pté  | Pté      |

ABRÉVIATIONS : T (trouble) ; L (louche) ; O (filtrat reste clair) ; Pté précipité.

|             | Bl. d'œuf coag. | Eau dist. | Hcl Off. dil. | Pep. T. 200 |
|-------------|-----------------|-----------|---------------|-------------|
| Ballon n° 1 | 2.50            | 58.50     | xxx gouttes   | 0.10        |
| — n° 2      | 2.75            | 58.25     | xxx gouttes   | 0.10        |
| — n° 3      | 3               | 58        | xxx gouttes   | 0.10        |
| — n° 4      | 3.55            | 57.75     | xxx gouttes   | 0.10        |
| — n° 5      | 3.50            | 57.50     | xxx gouttes   | 0.10        |

Nous nous apercevons que 0 gr. 10 de pepsine au titre 200 donne un essai satisfaisant avec 2 gr. 50 d'albumine d'œuf coagulée suivant notre procédé.

Nous avons fait les mêmes essais que dans le tableau ci-dessus mais en faisant varier le temps dans des limites plus étroites.

| NUMÉRO<br>DES<br>BALLONS | TOUCHE AZOTIQUE<br>20 gouttes d'acide azotique |      |      |         |          |
|--------------------------|------------------------------------------------|------|------|---------|----------|
|                          | 45 '                                           | 50 ' | 55 ' | 1 heure | 1 h. 1/2 |
| N° 1                     | Pté                                            | L    | Op   | O       | O        |
| N° 2                     | Pté                                            | Pté  | Tr   | T.      | Op       |
| N° 3                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | T.      | L        |
| N° 4                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté     | Pté      |
| N° 5                     | Pté                                            | Pté  | Pté  | Pté     | Pté      |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair); Pté (précipité).

Nous voyons que dans le premier ballon la digestion n'est pas achevée au bout de 55 min. et que dans le deuxième ballon elle ne l'est pas au bout d'une heure et demie. C'est donc bien la dose de 2 gr. 50 de blanc d'œuf qui correspond à une prise d'essai de 0 gr. 10 de pepsine titre 200.

#### SENSIBILITÉ DE LA RÉACTION

Inversement, afin d'étudier la sensibilité d'une telle digestion, nous avons fait des essais d'une heure en prenant 2 grammes 50 d'albumine d'œuf comme matière passive et en ne faisant varier que la dose de pepsine,

Conditions de l'essai

Albumine Coagulée... 2 gr. 50      Véhicule acide... 60 cm<sup>3</sup>  
 Température de digestion... 50°      Durée de la digestion... 1 h.

Pepsine poids variable T. I : 200

| PRISES<br>D'ESSAIS | TOUCHE AZOTIQUE<br>20 gouttes d'acide azotique |   |    |
|--------------------|------------------------------------------------|---|----|
|                    |                                                |   |    |
| 0.08               | L                                              | L | Op |
| 0.09               | Op                                             | O | Op |
| 0.10               | O                                              | O | O  |
| 0.11               | O                                              | O | O  |
| 0.12               | O                                              | O | O  |

ABRÉVIATIONS : L (louche); Op (opalescence); O (filtrat reste clair).

La sensibilité de notre essai nous a paru suffisamment rigoureuse pour déterminer le titre limite d'une pepsine commerciale.

D) Modification du contrôle de la réaction

Certains auteurs, Renaud [32], Fouillouze et Picot [14] par exemple ont employé la méthode de Soerensen comme complément de l'essai du Codex.

Nous allons étudier cette méthode en l'appliquant à l'essai du Codex et à notre essai au blanc d'œuf.

A) *Dosage des Amidogènes.* — Le principe de la méthode est le suivant :

Si, à une solution contenant des acides aminés et neutralisée à la soude en présence de phtaléine on ajoute une solution de formol également neutralisée et si on mélange les deux solutions, la teinture rose disparaît en présence des amidogènes.

La fonction COOH est libérée proportionnellement à la quantité d'amidogènes.

La fonction amine est bloquée probablement selon le schéma.



En réalité, dans nos digestions pepsiques, nous n'avons pas eu la prétention de doser les acides aminés, mais les amidogènes.

Après 6 heures de digestion, 30 cm<sup>3</sup> de digesté ont été additionnés de 0 gr. 50 de carbonate de chaux, puis portés à l'ébullition, que nous avons maintenue pendant une minute. Après refroidissement, nous avons rétabli le poids primitif par addition d'eau et nous avons filtré.

Les liqueurs filtrées étaient parfaitement claires.

Nous avons prélevé 10 cm<sup>3</sup> de cette liqueur. Nous l'avons neutralisée au moyen d'une liqueur de soude décimormale et nous l'avons additionnée de 10 cm<sup>3</sup> de formol du commerce au 1/2, également neutralisé.

La décoloration étant instantanée, nous avons mesuré l'acidité en ramenant la teinte rose avec une solution décimormale de soude dans une burette divisée en dixièmes de cm<sup>3</sup>.

Le volume V de solution ainsi employé est corrigé en lui ajoutant un trentième de sa valeur, soit 0 cm<sup>3</sup> I par 3 cm<sup>3</sup> de solution employée.

Le nouveau volume ainsi obtenu V' multiplié par le coefficient 0.0014 donne le poids de l'azote des amidogènes contenu dans les 10 cm<sup>3</sup> de digestat prélevé. Par un simple rapport, on peut connaître le poids de l'azote des amidogènes correspondant aux 2 grammes 50 de fibrine sèche mis en œuvre.

On peut éviter cette correction en remplaçant le coefficient 0.0014 par une autre 0.001446; ce nouveau chiffre correspond au coefficient 0.0014 augmenté de 1/30 de valeur.

La correction est ainsi obtenue directement et immédiatement; il en est de même si l'on veut exprimer les résultats en amoniaque; on multiplie soit V par le coefficient 0.0175, soit V' par le coefficient 0.0017.

En résumé nous obtenons :

$$\text{Poids de l'azote total} = V \times 0.001446$$

$$\text{ou } V' \times 0.0014$$

$$\text{Poids de l'ammoniaque} = V \times 0.00175$$

$$\text{ou } V' \times 0.0017$$

#### REMARQUE

Dans le virage à la phtaléine, nous ne nous sommes pas arrêtés à la teinte rose pâle, nous avons poursuivi jusqu'à la teinte rose foncé, presque rouge. Nous avons toujours ajouté la même quantité de phtaléine, soit 5 gouttes pour 10 cm<sup>3</sup>.

D'autre part, nous avons l'intention de préparer plusieurs litres de formol neutralisé pour plus de précision dans nos essais, mais nous avons constaté que l'acidité du formol augmentait spontanément avec le temps.

Dans les résultats qui suivront nous nous contenterons de noter la quantité de cm<sup>3</sup> de soude décimale correspondant aux amidogènes; en effet, ces résultats sont tout aussi suggestifs que si nous les exprimions en azote ou en ammoniaque.

B). *Influence de la défécation par le carbonate de chaux dans le dosage des amidogènes.* — Nous avons employé la défécation au carbonate de chaux préconisée par Harlay et [50] Choay, qui permet d'éliminer les albuminoïdes qui masquent l'acidité en empêchant un virage net à la phtaléine. On pourrait objecter à cette méthode que l'introduction d'un carbonate dans le milieu est incompatible avec son titrage en présence de phtaléine, mais cette objection est levée du fait que nous chassons par chauffage le gaz carbonique résultant de l'action de l'acide chlorhydrique sur le carbonate de chaux.

Nous avons fait une première expérience en maintenant fixe tous les facteurs de l'essai du Codex français, ne faisant varier que la durée de la digestion.

1) DURÉE DE LA DIGESTION = VARIABLE

Pepsine titre I : 100 ..... 0 gr. 10

Température de digestion 50°

Fibrine sèche 2 gr. 50  $\frac{\text{Fibrine}}{\text{Pepsine}} = \text{Constant}$

Véhicule acide 60 cm<sup>3</sup>  $\frac{\text{Fibrine}}{\text{Sol. Hcl. 2,50/1.000}} = \text{Constant}$

| TEMPS    | TITRAGE DES AMIDOGÈNES                |                  | TOUCHE AZOTIQUE                       |    |     | GOUTTES<br>MINIMA |
|----------|---------------------------------------|------------------|---------------------------------------|----|-----|-------------------|
|          | Nombre de cm3 de soude<br>décinormale |                  | Nombre de gouttes<br>d'acide azotique |    |     |                   |
|          | sans défécation                       | après défécation | X                                     | XX | XXX |                   |
| 1 heure  | 2,5                                   | 2,6              | O                                     | Tr | Pté | XII               |
| 3 heures | 2,5                                   | 2,8              | O                                     | L  | Tr  | XVIII             |
| 6 heures | 2,5                                   | 3                | O                                     | O  | O   | .....             |

ABRÉVIATIONS : T (trouble); L (louche); O (filtrat reste clair); Pté (précipité).

On peut constater que d'après ces résultats, la défécation a une certaine importance puisque la quantité de soude décinormale qu'il faut ajouter pour saturer les carboxyles libérés ne semble augmenter avec le temps qu'après défécation.

Il en est de même si l'on titre les amidogènes produits en fonction de la température.

2) TEMPÉRATURE DE DIGESTION = VARIABLE

Pepsine titre I : 100 ..... 0 gr. 10

Fibrine sèche 2 gr. 50  $\frac{\text{Fibrine}}{\text{Pepsine}} = \text{Constant}$

Véhicule acide 60 cm<sup>3</sup>  $\frac{\text{Fibrine}}{\text{Sol. Hcl. 2,50/1.000}} = \text{Constant}$

Durée de la digestion = 6 heures

| TEMPÉRATURE | TITRE DES AMIDOGÈNES                  |                  | TOUCHE AZOTIQUE                       |    |     | GOUTTES<br>MINIMA<br>acide azotique<br>pour produire<br>un trouble |
|-------------|---------------------------------------|------------------|---------------------------------------|----|-----|--------------------------------------------------------------------|
|             | Nombre de cc3 de soude<br>décinormale |                  | Nombre de gouttes<br>d'acide azotique |    |     |                                                                    |
|             | sans défécation                       | après défécation | X                                     | XX | XXX |                                                                    |
|             |                                       |                  |                                       |    |     |                                                                    |
| 37°         | 2,5                                   | 2,5              | T                                     | T  | Pté | x                                                                  |
| 40°         | 2,5                                   | 2,6              | Op                                    | T  | Pté | xv                                                                 |
| 50°         | 2,5                                   | 3                | O                                     | O  | L   | xxx                                                                |

ABRÉVIATIONS : T(trouble) ; L (louche) ; Op (opalescence) ; O (filtrat reste clair) ; Pté (précipité).

C). Application de la méthode Sørensen à l'essai du Codex français. —

En vue de contrôler la digestion dans l'essai du Codex français par la méthode de Sørensen, nous avons déterminé le nombre de cm<sup>3</sup> de soude décinormale nécessaires pour saturer les carboxyles libérés avec des poids croissants de pepsine.

Pour chaque essai, nous avons dosé la quantité d'amino-acides contenue dans les parties solubles des différentes prises d'essai des ferments. Ces chiffres variaient dans nos essais entre 0.1 et 1 cm<sup>3</sup> de soude décinormale. Nous avons donc défalqué ce chiffre de celui que nous avons obtenu dans chacun de nos titrages ;

ce sont ces chiffres corrigés qui sont consignés dans nos tableaux.

1°. En faisant seulement varier les prises d'essai, nous nous sommes aperçus que la production des carboxyles varie dans de faibles proportions par rapport aux poids de pepsine employés.

Poids croissants de pepsine T. I : 100

Essai du Codex français

| PRISES<br>D'ESSAI | TITRAGE<br>des Amidogènes<br>Nombre de cc3 de<br>soude décijnormale | TOUCHE AZOTIQUE<br>Nombre de gouttes azotique |     |    | GOUTTES<br>MINIMA |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----|----|-------------------|
|                   |                                                                     | X                                             | XXX | XX |                   |
| 0.08              | 2,6                                                                 | L                                             | T   | T  | XV                |
| 0.09              | 2,7                                                                 | Op                                            | L   | T  | XX                |
| 0.10              | 2,7                                                                 | O                                             | O   | L  | XXV               |
| 0.11              | 2,9                                                                 | O                                             | O   | L  | XXX               |
| 0.12              | 2,9                                                                 | O                                             | O   | O  |                   |
| 0.20              | 2,9                                                                 | O                                             | O   | O  |                   |

ABRÉVIATIONS : T (trouble) ; L (louche) ; Op (filtrat reste clair).

2° Nous nous sommes demandés si l'on pouvait dépasser le chiffre 3 cm<sup>3</sup> soude décijnormale en augmentant le temps de digestion de l'essai du Codex.

Dans le tableau suivant nous voyons qu'au bout de 12 heures (ballon n° 1) la quantité d'amidogènes n'a pas augmenté ; mais au cours de cette digestion prolongée le pouvoir protéolytique de la pepsine a diminué.

Au bout de 6 heures de digestion, nous avons ajouté 0 gr. 10 de pepsine au contenu du ballon n° 2 et poussé la digestion pendant une durée supplémentaire de 6 heures. Le troisième ballon servant de témoin ne reçut aucune addition de pepsine.

| NUMÉROS<br><br>DES<br><br>BALLONS | PRISES<br><br>D'ESSAIS<br><br>PEP. T 100 | TITRAGE DES AMIDOGÈNES                |                  | TOUCHE                                   |
|-----------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------------------------------|
|                                   |                                          | Nombre de cm3 de soude<br>décinormale |                  | AZOTIQUE                                 |
|                                   |                                          |                                       |                  | Nombre de<br>gouttes d'acide<br>azotique |
|                                   |                                          | après 6 h. dig.                       | après 12 h. dig. |                                          |
| N° 1                              | 0.10                                     |                                       | 2,9              | O                                        |
| N° 2                              | 0.10 + 0.10                              | 2,7                                   | 3                | O                                        |
| N° 3                              | 0.10                                     | 2,7                                   | 2,9              | O                                        |

ABRÉVIATION : O (filtrat reste clair).

Nous avons titré les carboxyles libérés dans chacun de nos ballons. L'addition du poids supplémentaire de pepsine au ballon n° 2 n'a pas fait augmenter d'une façon bien sensible la quantité de carboxyles libérés.

On peut donc conclure que dans l'essai du Codex français, le chiffre de 2,7 soude décinormale correspond à une touche azotique satisfaisante, mais qu'il semble assez difficile de dépasser, dans une même digestion prolongée au delà de 6 heures, le chiffre de 3 cm<sup>3</sup> de soude décinormale.

Dans le premier cas, on aurait une production de :

$$2,7 \times 0,001446 \times 6 = 0 \text{ gr. } 023$$

et dans le second cas :

$$3 \times 0,001446 \times 6 = 0 \text{ gr. } 026$$

d'amidogène calculés en azote.

D) *Application de la méthode de Sørensen à l'essai rapide au blanc d'œuf coagulé.* — Dans le tableau suivant, nous voyons que les quantités de carboxyles libérés sont minimales ; les différences entre les quantités d'amidogènes produites au cours de nos digestions sont également minimales.

ESSAI AU BLANC D'ŒUF COAGULÉ

Température de digestion .....50°

Durée de digestion.....1 heure

Albumine coagulée.....2 gr. 50    Véhicule acide.....60 cm<sup>3</sup>

$$\frac{\text{Albumine}}{\text{Sol. Hcl } 2,50/1.000} = \text{Constant}$$

| PRISES<br>DESSAIS | TITRAGE<br>LES<br>AMIDOGÈNES                         | TOUCHE AZOTIQUE                    |    |     |
|-------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------|----|-----|
|                   | Nombre de cm <sup>3</sup><br>de soude<br>décinormale | Nombre de gouttes d'acide azotique |    |     |
|                   |                                                      | X                                  | XX | XXX |
| 0.08              | 0,3                                                  | O                                  | Op | L   |
| 0.10              | 0,5                                                  | O                                  | O  | T   |
| 0.15              | 0,5                                                  | O                                  | O  | L   |
| 0.20              | 0,6                                                  | O                                  | O  | O   |
| 0.30              | 0,6                                                  | O                                  | O  | O   |

ABBREVIATIONS : T (trouble) ; L (louche) ; Op (opalescence) ; O (filtrat reste clair).

De ce qui précède, nous voyons que cette méthode ne peut pas remplacer avantageusement la touche azotique opérée dans les conditions que nous avons signalées à propos de l'essai du Codex français.

## CONCLUSIONS

---

De notre travail, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

I. — Les essais de la pepsine prescrits par les diverses pharmacopées diffèrent à la fois par leur technique et par le mode d'expression de leurs titres; nous montrons que malgré ces divergences, l'on peut établir des équivalences entre ces titres, si l'on prend la précaution de se placer dans des conditions exactement déterminées.

II. — Dans le tableau qui suit, figure, d'une part le titre légal de quelques pepsines officinales, d'autre part le titre de ces pepsines en unités étrangères tel qu'il résulte de nos recherches.

| TITRES NORMAUX<br>des Pepsines Officinales | TITRES DE CES PEPSINES EXPRIMÉS<br>EN UNITÉS ÉTRANGÈRES |        |           |       |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------|-----------|-------|
|                                            | Françaises                                              | Belges | Anglaises | U. S. |
| Française 100                              | 100                                                     | 70     | 1.470     | 1.000 |
| Belge 100                                  | 140                                                     | 100    | 2.058     | 1.400 |
| Anglaise 2.500                             | 170                                                     | 119    | 2.500     | 1.700 |
| U. S. 3.000                                | 300                                                     | 210    | 4.410     | 3.000 |

En lisant horizontalement ce tableau, nous trouvons les titres normaux des pepsines officinales exprimées en unités étrangères; en le lisant verticalement, chaque chiffre donne le titre de la pepsine qui, exprimé en unités du pays indiqué en tête de colonne équivaut au titre de la pepsine normale ou « Standard » indiquée au début de la ligne horizontale.

III. — Nous avons mis au point un procédé qui, pour apprécier la fin de la réaction, garde le même « test » que le Codex français mais dans lequel la fibrine est remplacée par le blanc d'œuf dans des conditions déterminées. Ce procédé a l'avantage de présenter une plus grande rapidité (1 heure au lieu de 6 heures) et une matière passive plus facile à se procurer.

IV. — Notre étude montre que la pepsine au titre 100 français est la moins active des quatre pepsines étudiées et qu'il y aurait donc intérêt à élever le titre de la pepsine normale ou « Standard » du Codex français au titre 200, ce qui la placerait entre les pepsines belge et anglaise.

V. — D'ailleurs pour la clarté du langage et la facilité des transactions il serait souhaitable que les pharmacopées adoptent un mode de titrage unique déterminant un ou plusieurs titres normaux.

Vu, bon à imprimer :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,  
GRIMBERT.

Vu :

LE DOYEN DE LA FACULTÉ,  
RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,  
S. CHARLÉTY.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

- [1]. AGASSE-LAFONT E. — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique, 1920, 6, 667, Paris, Vigot frères.
- [2]. ANDOUARD A. — Nouveaux éléments de Pharmacie, 1898, 12, 517, Paris, Bayer et Fils (5<sup>e</sup> édit.).
- [3]. ASTRUC. — Traité de pharmacie galénique, 1921, 11, 4, 757, Paris, Maloine.
- [4]. BERTRAND & THOMAS — Guide pour les manipulations de Chimie Biologique, 1919.
- [5]. BLANCHETIÈRE. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, 7, 152-158.
- [6]. BOURQUELOT. — Recherches expérimentales sur les phénomènes de digestion chez les mollusques Céphalopodes. Th. Doct. ès-sc. Paris, 1884.
- [7]. BRANCAZ. — Contribution à l'étude du titrage de la pepsine pharmaceutique. Th. Doct. Pharm. Lyon, 1906.
- [8]. CASTILLE & M<sup>lle</sup> POURBAIX. — *Bull. de l'Acad. royale de Méd. de Belgique*, juin 1926, p. 412 (3<sup>e</sup> édit.).
- [9]. CHAUVEAU & ARLOING. — Traité d'anatomie comparée des animaux domestiques (4<sup>e</sup> édit.). 458.
- [10.] DISDIER F. — Contribution à l'étude de la digestion pepsique. Th. Doct. Pharm., Paris, 1904.
- [11]. FISCHER E. — Unter sunchungen über Aminosauren, Polypeptide und Proteine, 1906, Berlin, Julius Springer.
- [12]. FLEICHER K. — Ueber neuere Methoden quantitativen Pepsinbestimmung, Wiener, Klin, Woch, 1907, n° 48.
- [13]. FORBES J.-C. — The Purification of Pepsin, its properties and Physical Characters. *Journ. of biol. Chem.*, 1927, 71, 559 à 584.
- [14]. FOUILLOUZE. — Influence de certains médicaments hypnotiques sur les phénomènes chimiques de la digestion. Th. Doct. Pharm., Lyon, 1920.
- [15]. FROSSARD R. — La papaïne et sa protéolyse. Th. Doct. Pharm., Paris, 1926.
- [16]. FULD E. & LEVISON. — Die Pepsinbestimmung mittels der Edestinprobe. *Biochem, Ztschr*, 1907, 6, 473.
- [17]. GESSARD G. — Sur la fibrine du sang. *C. R. Ac. Sc.*, 1910, t. 31., 1771
- [18]. GRUNHAGEN. — Neue Methode die Wirkung des Magenpepsin, zu Werauschaulichen, zu Messen. *Pflüg, Arch*, 1873, V, 203.
- [19]. HAMMARSTEN & HÉDIN. — (S. G.). — Lehrbuch der Physiologischen Chemie 1914 (gr. in-8°). Auflage, 442, Wiesbaden. S.-F. Bergmann.
- [20]. HARLAY. — De l'application de la tyrosinase à l'étude des ferments protéolytiques, Th. Doct. Univ. (Pharm.), Paris, 1900, p. 16.

- [21]. HENNINGER. — Thèse inaugurale, Paris, 1878.
  - [22]. HUGOUNENQ. — Précis de Chimie Physiologique et Pathologique, 1921, 3, 206, Paris, Doin et Cie.
  - [23]. JAVILLIER M. — Des ferments protéolytiques, Th. d'agrégation, 25, Paris, 1909.
  - [24]. LAMBLING E. — Précis de Biochimie, 1921, 8, 158, Paris, Masson.
  - [25]. MACQUAIRE P. — De l'emploi de la fibrine desséchée et pulvérisée dans l'essai de la pepsine, Paris, 1900.
  - [26]. MEUNIER. — De la mesure clinique de l'activité digestive de l'estomac, procédé à la filandre et à la perle d'éther. *Bull. Sc. Pharmacol.* 1918.
  - [27]. MICHAELIS L. — Manuel de technique de physico-chimie. Traduc. de H. Chabanier et C. Lobo-Onell (2<sup>e</sup> tir.), 1925, 46, Paris, Masson & Cie.
  - [28]. OPPENHEIMER C. — Die Fermente und Ihre Wirkungen, 1900, 8, 91, Leipzig, Vogel.
  - [29]. PETIT A. — Recherches sur la pepsine, 1881, 26, Paris, Masson.
  - [30]. PLÉ J. — Contribution à l'étude de la purification de la Pepsine, Th. Doct. Pharm., Paris, 1929.
  - [31]. PLUMMER R.-A.-H. — Practical org. and. Bio. Chim., 451, 1918.
  - [32]. RENAUD E. — Etude pharmacologique de la pepsine, Th. Doct. Pharm., Montpellier. 1923.
  - [33]. ROGER & GARNIER. — Influence des variations simultanées de la pepsine et de l'acide chlorhydrique sur la digestion pepsique. *C. R. Soc. Biol.*, LXI, 1906.
  - [34]. RULOT H. — Intervention des leucocytes dans l'autolyse de la fibrine, *Arch. Internat. de Physiol.*, 1904, t. I, 152-158.
  - [35]. SCHUTZ E. — Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmengen *Zeitscher, Pharm.* 1887, Chem. IX, 577.
  - [36]. SORENSEN. — Sur l'alumine du blanc d'œuf, *Bull. Soc. Chim.* (4<sup>e</sup> série), 29, 1921, p. 593-624.
  - [37]. TESTUT. — Traité d'anatomie humaine, 1912, 4, 137, Paris, Dion & Cie.
  - [38]. WURTZ Ad. — Dictionnaire de chimie supp. (2<sup>e</sup> partie), article pepsine, Paris, Hachette et Cie.
  - [39]. WURTZ Ad. — Dictionnaire de chimie, t. II (1<sup>re</sup> partie), 584, Paris, Hachette et Cie.
-



